

**Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity  
Karlovy v Praze**



**Diplomová práce**

**Cytogeografie *Cardamine amara* v České  
republice a objasnění původu tetraploidních  
populací**

**Cytogeography of *Cardamine amara* in the  
Czech Republic and the origin of tetraploid  
populations**

Iva Krásná

Školitel: doc. RNDr. Karol Marhold CSc.  
Konzultanti: Mgr. Judita Lihová, PhD. Mgr. Tomáš Fér

Praha 2008



## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Praze dne:..... Popis:.....

## Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala lidem, kteří mě podpořili při vypracování mé diplomové práce.

Na prvním místě bych ráda poděkovala svému školiteli Karolu Marholdovi za vedení práce, za jeho ochotu, trpělivost a mnoho cenných rad.

Dále bych ráda poděkovala Tomášovi Urfusovi a Petru Vítovi za jejich ochotnou pomoc a úžasnou trpělivost s Cyflow při cytometrických analýzách *Cardamine*, Juditě Lihové a Tomášovi Férovi za rady a pomoc při AFLP analýzách a jejich vyhodnocení, Evě Rejskové a Veronice Machalové za ochotnou pomoc v DNA laboratoři, Jaroslavu Kučerovi za rady při počítání chromozómů. Za pomoc při pěstování rostlin ve prostorách Botanické zahrady bych ráda poděkovala Romaně Štěpánkové a personálu botanické zahrady.

Rovněž chci poděkovat svým přátelům a své rodině za jejich pomoc a podporu. Ráda bych poděkovala zejména Filipovi, který mě podporoval od počátečního sběru materiálu až po samotné zpracování této práce.

# OBSAH

<b>1. Úvod .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Charakteristika rodu <i>Cardamine</i> L. ....</b>	<b>5</b>
2.1. Charakteristika skupiny <i>Cardamine amara</i> .....	6
2.2. Taxonomické zařazení druhu <i>Cardamine amara</i> .....	17
2.3. Podrobná morfologická charakteristika .....	17
2.3.1. <i>Cardamine amara</i> subsp. <i>amara</i> .....	18
2.3.2. <i>Cardamine amara</i> subsp. <i>austriaca</i> .....	19
<b>3. Materiál .....</b>	<b>20</b>
<b>4. Cytometrie .....</b>	<b>36</b>
4.1. Úvod .....	36
4.2. Charakteristika metody .....	36
4.2.1. Výhody a nevýhody metody .....	39
4.3. Postup .....	39
4.3.1. Stanovení DNA ploidie .....	40
4.3.2. Stanovení absolutní velikosti genomu .....	40
4.4. Výsledky .....	41
4.5. Podrobné studium smíšených populací .....	49
<b>5. Karyologie .....</b>	<b>62</b>
5.1. Úvod .....	62
5.2. Charakteristika metody .....	62
5.3. Postup roztlačkových preparátů .....	63
5.4. Výsledky .....	64
<b>6. Druhy alpské migrace .....</b>	<b>65</b>
6.1. Úvod .....	65
6.2. <i>Soldanella montana</i> Willd. ....	67
6.3. <i>Willemetia stipitata</i> (Jacq.) Dalla Torre .....	68
6.4. <i>Duschekia alnobetula</i> (Ehrh.) Pouzar .....	70
6.5. <i>Salix appendiculata</i> Vill. ....	71
6.6. <i>Gentiana pannonica</i> Scop. ....	72
6.7. <i>Cardamine amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold .....	74



<b>7. AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism)</b>	<b>75</b>
7.1. Úvod	75
7.2. Charakteristika metody	75
7.3. Postup	78
7.3.1. Extrakce DNA pomocí Qiagen DNeasy Plant Mini Kitu	78
7.3.1.1. Spektrofotometre	78
7.3.2. Postup metody AFLP	79
7.4. Postup vyhodnocení AFLP dat	82
7.5. Výsledky	84
<b>8. Diskuse</b>	<b>93</b>
<b>9. Závěr</b>	<b>102</b>
<b>10. Abstrakt</b>	<b>103</b>
<b>11. Seznam použité literatury</b>	<b>104</b>
<b>12. Seznam obrázků</b>	<b>111</b>
<b>13. Seznam tabulek</b>	<b>113</b>
<b>13. Přílohy</b>	<b>114</b>

## 1. ÚVOD

Mezidruhov<sup>á</sup> hybridizace a polyploidizace jsou zdrojem genetické variability a nových genetických kombinací u rostlin a obvykle jsou úzce svázány. Mnoho příkladů hybridizace a polyploidizace je zaznamenáno u čeledi *Brassicaceae* jako např.: *Cardamine* L. (Marhold & Lihová 2006, Lihová & Marhold 2006), *Rorippa* Scop. (Bleeker & Hurka 2001) a *Lepidium* L. (Mummenhoff *et al.* 2004), což indikuje, že jde o významný evoluční fenomén této čeledi. Z morfologického pohledu hybridi typicky tvoří mosaiku rodičovských a přechodných znaků, v hybridním fenotypu se však často objevují mimořádné a nové znaky (Lihová & Marhold 2006).

Polyploidizace je bezpochyby častý způsob diverzifikace a speciace u rostlin. Současné studie genomů ukazují, že všechny krytosemenné rostliny mají paleopolyploidní původ a poté prošly procesem diploidizace. Většina rostlin tedy podstoupila jednu či více polyploidizačních událostí během jejich evoluce (Soltis *et al.* 2004). Jejich polyploidní status se dá zjistit jen pomocí detailní molekulární analýzy. V dnešní době již není otázkou „jaké je zastoupení polyploidů v krytosemenných rostlinách“ ale „kolika polyploidizačními událostmi je charakterizována daná evoluční linie“ (Soltis 2008). Bez důkazů o paleopolyploidizaci je jenom rod *Amborella*, který představuje sesterskou skupinu krytosemenným rostlinám. Odhady zastoupení recentních polyploidů se značně liší. Ramsey a Schemske (1998) ve své práci udávají, že 47–70 % krytosemenných rostlin jsou polyploidi. U čeledi *Brassicaceae* je odhadováno 37 % polyploidních druhů (Warwick & Al-Shehbaz 2006). U rodu *Cardamine* je identifikováno 32 % diploidů, 10 % diploidů a polyploidů a 58 % výhradních polyploidů (Kučera *et al.* 2005). Dalším příkladem rodů z této čeledi jsou: *Draba* L. – 25 % diploidů, 7 % diploidů a polyploidů, 68 % výhradních polyploidů; *Lepidium* – 34 % diploidů, 14 % diploidů i polyploidů a 52 % výhradních polyploidů. Vysoké procento polyploidů v rodu *Cardamine* jasně ukazuje evoluční důležitost polyploidie pro speciaci tohoto rodu (Marhold & Lihová 2006).

Současná míra genetické variability a její geografické rozmístění na severní polokouli je významně ovlivněno klimatickými změnami během Pleistocénu (Taberlet *et al.* 1998). Rozsáhlá polyploidizace, hybridizace a klimatické změny ve čtvrtohorách hrály významnou roli i v evoluci rodu *Cardamine* (Marhold *et al.* 2002a). Rozšíření populací *Cardamine amara* subsp. *austriaca* Marhold značně souvisí s oblastí ovlivněnou pleistocénním zaledněním a předpokládá se, že polyploidizace se objevila během doby

meziledové či těsně po ustoupení ledovce (Marhold 1999a). Detailní rozšíření tetraploidních populací a zejména jejich severní hranice areálu v ČR nebyla doposud známa. Tetraploidní cytotyp zastupuje v květeně České republiky alpský element, který je nedílnou součástí květeny zejména jižní části našeho území.

Na území České republiky se potkávají tři poddruhy *Cardamine amara* L. – diploidní *C. amara* subsp. *amara*, diploidní *C. amara* subsp. *opicii* (J. Presl & C. Presl) Čelak. a tetraploidní poddruh *C. amara* subsp. *austriaca*. Zatímco areál diploidního poddruhu *C. amara* subsp. *opicii* v Čechách a na Moravě je dosti podrobně zmapován (Marhold 1992a, 1994, Hrouda & Marhold 1993, Lihová *et al.* 2000), rozšíření zbývajících dvou poddruhů nebylo dosud známé. Nebylo známo ani jestli se v kontaktní zóně těchto dvou poddruhů nacházejí smíšené populace a zda dochází k jejich hybridizaci. Česká republika se nachází v kontaktní zóně diploidů a tetraploidů a tudíž populace *Cardamine amara* představují vhodný objekt, který není zajímavý jen z hlediska poznání květeny ČR. Poznatky zjištěné studiem tohoto objektu mohou mít širší uplatnění a být zajímavé z obecnějšího hlediska, zejména studia historie polyploidních komplexů, jejich evoluční dynamiky a vztahů ke glaciální a postglaciální historii středoevropské květeny.

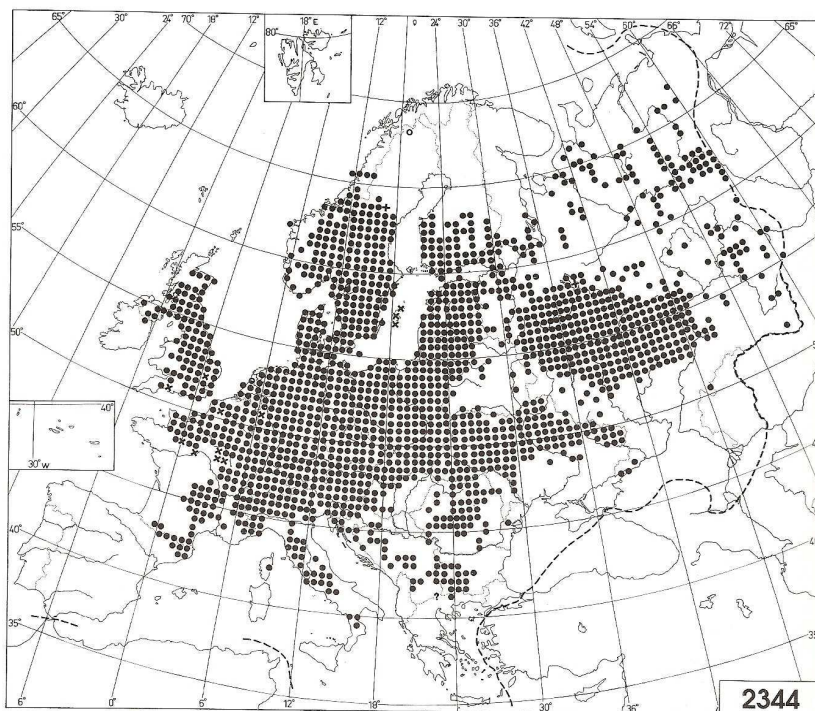
### Cíle diplomové práce:

- 1) Jaké je přesné rozšíření diploidních a tetraploidních cytotypů *C. amara* v ČR, případně v příhraničních územích Německa a Rakouska?
- 2) Existují smíšené populace obsahující více cytotypů? Dochází na kontaktu diploidních a tetraploidních populací k jejich hybridizaci?
- 3) Existuje vzájemná podobnost areálů tetraploidních populací *C. amara* a dalších prvků alpského migračního elementu v Čechách?
- 4) Je možné, na základě molekulárních dat (AFLP), usuzovat na jednorázový nebo na polytopický vznik tetraploidního poddruhu *C. amara* subsp. *austriaca*?

## 2. CHARAKTERISTIKA RODU *CARDAMINE* L.

Rod *Cardamine* L. je jeden z největších rodů z čeledi *Brassicaceae*. Vyskytuje se na všech kontinentech mimo Antarktidy. Podle posledních odhadů je v rámci *Cardamine* zahrnuto kolem 200 druhů, přičemž počet uváděných druhů závisí na taxonomickém pojetí u několika komplikovaných skupin (např. skupina *Cardamine pratensis*; Marhold & Ančev 1999, Lihová *et al.* 2003, 2004). Nejvíce druhů se vyskytuje na Dálném Východě, v Himalájích, Severní Americe a Evropě, zatímco jižní polokoule je na druh *Cardamine* poměrně chudá (Al-Shehbaz 1988, Lihová & Marhold 2006). V roce 1993 bylo v díle Flora Europaea pro Evropu uvedeno 36 druhů *Cardamine* (Jones & Akeroyd 1993). V současné době můžeme rozlišit 54 druhů (Lihová & Marhold 2006).

V rámci evropského rozšíření zahrnuje rod *Cardamine* několik polyploidních komplexů, *Cardamine pratensis* s. l., *C. amara* s. l. a *C. raphanifolia* s. l. V minulých letech byla soustředěna pozornost taxonomů zejména na komplex *Cardamine pratensis*. Avšak studie posledních dvaceti let odhalily zajímavý charakter karyologické a morfologické variability na úrovni subspecíí i u komplexu *Cardamine amara* (Marhold *et al.* 2002a, Marhold *et al.* 2004).



Obr. 1: Rozšíření druhu *Cardamine amara* v Evropě (• - výskyt *C. amara*, x – *C. amara* pravděpodobně vyhnula, nezaznamenána od r. 1930 (Jalas & Suominen 1994).

## 2.1. Charakteristika skupiny *Cardamine amara*

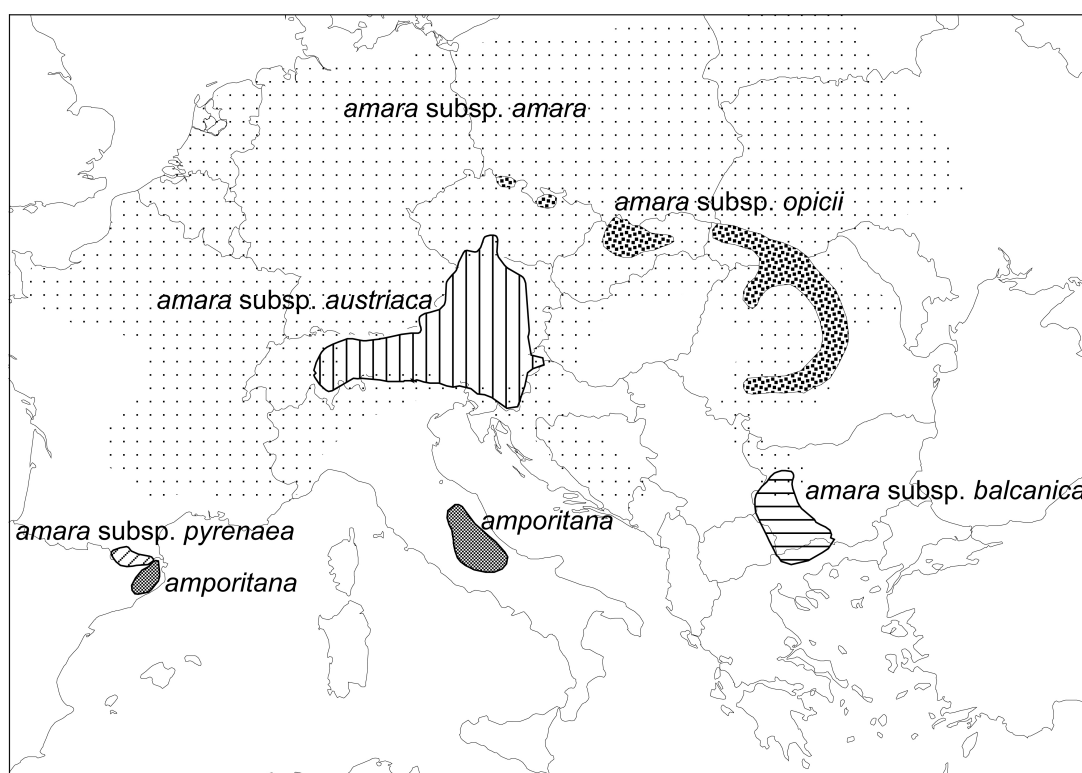
Skupina *Cardamine amara* je rozšířena na většině území Evropy a zasahuje do Asie a zřejmě až na Dálný Východ (tab. 1, obr. 1, 2) i když taxonomická klasifikace tamních populací není úplně jasná. Zajímavostí je, že tetraploidi obývají jen tři disjunktní oblasti: východní Alpy s přilehlými oblastmi, omezené oblasti v Katalánii a střední Itálii, zatímco diploidi jsou široce rozšířeni v celé Evropě (Marhold 1999a).

Na diploidní úrovni jsou známy čtyři poddruhy: *Cardamine amara* subsp. *amara*, subsp. *opicii*, subsp. *balcanica* a subsp. *pyrenaea*. Tetraploidní populace jsou reprezentovány druhem *Cardamine amporitana* a poddruhem *C. amara* subsp. *austriaca*.

Skupina *Cardamine amara* byla podrobně studovaná za využití různých molekulárních markerů. V práci Marhold *et al.* (2002b) se analyzovaly populace tohoto okruhu s využitím isozymových markerů. Mezi diploidními poddruhy byly nejlépe diferencované *C. amara* subsp. *pyrenaea* a *C. amara* subsp. *balcanica*. Oba dva tyto poddruhy měly unikátní alely, u poddruhu subsp. *balcanica* však tato unikátní alela nebyla fixovaná. *C. amara* subsp. *amara* a subsp. *opicii* se sice nelišily unikátními alelami, ale měly odlišnou frekvenci alel v populacích. Dva analyzované tetraploidní taxony se výrazně od sebe odlišovaly. Zatímco druh *C. amporitana* (= *C. amara* subsp. *olotensis*) se odlišoval od zbývajících částí skupiny *C. amara* unikátní alelou a frekvencí některých dalších alel, poddruh *C. amara* subsp. *austriaca* se jen málo lišil od diploidního poddruhu *C. amara* subsp. *amara*. Toto autoři interpretovali jako indikaci relativně nedávného vzniku tohoto tetraploida. Podobné výsledky byly získané i s využitím RAPD markerů (Lihová *et al.* 2000). Skupina byla studovaná i s využitím AFLP markerů, které přinesly konzistentní výsledky ve srovnání s ostatními markery. Zatímco druh *C. amporitana* a poddruhy *C. amara* subsp. *pyrenaea*, subsp. *opicii* a subsp. *balcanica* měly na dendrogramu sestrojeném metodou spojování nejbližších sousedů (neighbour-joining tree) střední až vysokou statistickou podporu (hodnoty „bootstrap“ od 78 do 100), tak vzorky *C. amara* subsp. *amara* a *C. amara* subsp. *austriaca* netvořily statisticky podpořené větve na dendrogramu (Lihová *et al.* 2004c).

Tab. 1: Přehled rozšíření jednotlivých podruhů komplexu *Cardamine amara* L.  
(Marhold 1999a, Kučera & Marhold 2006).

Druhy / poddruhy <i>Cardamine amara</i>	Rozšíření v Evropě	Ploidní úroveň
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	celá Evropa kromě východních Alp, jižní části Balkánského poloostrova a Iberského poloostrova	2x
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	Karpaty, Sudetské pohoří	2x
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>balcanica</i> Marhold et al.	hory JZ Bulharska a SV Řecka	2x
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>pyrenaea</i> Sennen	Pyreneje	2x
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>austriaca</i> Marhold	východní Alpy a přilehlé oblasti	4x
<i>C. amporitana</i> Sennen & Pau (dříve známá jako <i>C. amara</i> subsp. <i>olotensis</i> O. Bolós)	centrální Itálie, Katalánie	4x



Obr. 2: Mapa rozšíření skupiny *Cardamine amara* v Evropě znázorňuje oblasti rozšíření *C. amporitana*, *C. amara* subsp. *amara*, *C. amara* subsp. *austriaca*, *C. amara* subsp. *opicii*, *C. amara* subsp. *pyrenaea* a *C. amara* subsp. *balcanica*. Přičemž oblast rozšíření *C. amara* subsp. *amara* pokrývá většinu Evropy a táhne se až do Asie (upraveno podle práce Lihová *et al.* 2004b).

V celém rodu *Cardamine* je udáváno pět základních chromozómových čísel  $x = 6, 7, 8, 10, 12$  (Al-Shehbaz 1988, Marhold 1993, 1994, Lihová & Marhold 2006). Základním chromozómovým číslem druhu *Cardamine amara* je  $x = 8$ . První záznam o chromozómech *Cardamine amara* podal v roce 1931 Lawrence ( $2n = 16$ ), stejný počet potvrdila o rok později Irene Manton. Mattick (v Tischler 1950) objevila tetraploidní počet ( $2n = 32$ ) u rostlin z Alp (Lövkvist 1957). Literární údaje o počtech chromozómů ve skupině *Cardamine amara* na území Evropy jsou uvedené v tabulce 2.

Tab. 2: Publikované počty chromozómů ve skupině *Cardamine amara* v Evropě (databáze Kučera *et al.* 2005).

Determinace podle databáze	Počet chromozómů	Stát	Počet lokalit	Počítal	Publikoval	Rok	Poznámka
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Bělorusko	1	Dmitrieva S. A.	Dmitrieva S. A.	1985	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Bělorusko	1	Semerenko L. V.	Semerenko L. V.	1985	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Bulharsko	1	Marhold K., Ančev M.	Marhold K., Ančev M. E., Kit Tan	1996	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Bulharsko	2	Ančev M. E., Marhold K., Goranova V.	Ančev M. E., Marhold K., Goranova V.	1997	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	ČR	1	Krahulcová A.	Měsíček J., Javůrková - Jarolímová V.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	ČR	4	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	ČR	6	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	ČR	5	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	ČR	1	Lihová J.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T.F.	2004	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Dánsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Francie	4	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Francie	1	Manton I.	Manton I.	1932	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	$2n=16$	Francie	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957	

<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Francie	1	Gadella Th. W. J., Kliphuis E.	Gadella Th. W. J., Kliphuis E.	1970	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	n=8	Francie	1	Favarger C.	Favarger C.	1965	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Itálie	5	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Itálie	2	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	3	Huthmann M.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	3	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	3	Huthmann M.	Marhold K., Huthmann M., Hurka H.	2002	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	1	Manton I.	Manton I.	1932	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	2	Lippert W., Heubl G. R.	Lippert W., Heubl G. R.	1988	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	1	Koch M.	Koch M., Bishop J., Mitchell-Olds T.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Polsko	6	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Polsko	6	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Polsko	4	Skalińska M.	Skalińska M.	1950	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Polsko	9	Banach - Pogan E.	Banach - Pogan E.	1955	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rakousko	2	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rakousko	12	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rakousko	2	Habeler E.	Habeler E.	1963	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rumunsko	3	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rumunsko	4	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rusko	1	Sokolovskaya A. P	Sokolovskaya A. P	1972	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rusko	6	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rusko	1	Sokolovskaya A. P	Sokolovskaya A. P	1960	



<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Rusko	1	Probatova N. S., Sokolovskaya A. P.	Probatova N. S., Sokolovskaya A. P.	1988	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=24	Rusko	1	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	15	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	39	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	1	Hindáková M.	Májovský J. et al.	2000	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	2	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Neuffer B.	2000	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	1	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T.F.	2004	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovensko	2	Uhríková A.	Májovský J. et al.	1978	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=32	Slovensko	1	Hindáková M.	Májovský J. et al.	1974	pochybný údaj
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovinsko	2	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Slovinsko	1	Lihová J.	Lihová J., Marhold K.	2003	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švédsko	22	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švýcarsko	41	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	1972	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	1974	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K.	Urbanska-Worytkiewicz K.	1977	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K.	Urbanska-Worytkiewicz K.	1978	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Ukrajina	7	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Ukrajina	12	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Ukrajina	5	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979	

<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Velká Británie	1	Al-Bermani A.-K. K. A. et al.	Al-Bermani A.-K. K. A., Al-Shammary K. I. A., Bailey J. P., Gornall R. J.	1993	
<i>C. amara</i> L. subsp. <i>amara</i>	2n=16	Německo	1	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	ČR	1	Jarolímová V.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	ČR	12	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Chorvatsko	3	Kučera J., Kolnik M.	Kučera J., Marhold K.	2006	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Itálie	2	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Německo	5	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	4	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	28	Habeler E.	Habeler E.	1963	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	2	Gadella Th. W. J., Kliphuis E., Kramer K. U.	Gadella Th. W. J., Kliphuis E., Kramer K. U.	1970	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	108	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	4	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Rakousko	6	Huthmann M.	Marhold K., Huthmann M., Hurka H.	2002	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	n = 16	Rakousko	1	Teppner H.	Teppner H.	1980	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Slovinsko	4	Marhold K.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Slovinsko	5	Lihová J.	Lihová J., Marhold K.	2003	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	n=16	Střední Evropa	1	Mattick	Tischler G.	1950	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Švýcarsko	19	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	1972	
<i>C. amara</i> subsp. <i>austriaca</i> Marhold	2n=32	Itálie	2	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Marhold K.	1999	
<i>C. amara</i> subsp. <i>balcanica</i> Marhold, Ančev & Kit Tan	2n=16	Bulharsko	12	Marhold K., Ančev M.	Marhold K., Ančev M. E., Kit Tan	1996	

<i>C. amara</i> subsp. <i>balcanica</i> Marhold, Ančev & Kit Tan	2n=16	Bulharsko	1	Ančev M. E., Marhold K., Goranova V.	Ančev M. E., Marhold K., Goranova V.	1997	
<i>C. amara</i> subsp. <i>balcanica</i> Marhold, Ančev & Kit Tan	2n=16	Bulharsko	1	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Neuffer B.	2000	
<i>C. amara</i> subsp. <i>balcanica</i> Marhold, Ančev & Kit Tan	2n=16	Bulharsko	2	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T. F.	2004	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	ČR	2	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	ČR	3	Krahulcová A.	Měsíček J., Javůrková - Jarolímová V.	1992	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	ČR	3	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Polsko	4	Skalińska M.	Skalińska M.	1950	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Polsko	12	Banach - Pogan E.	Banach - Pogan E.	1955	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Polsko	2	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Polsko	2	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=32	Polsko	1	Banach - Pogan E.	Banach - Pogan E.	1955	výsledek somatické polyploidní mutace
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Rumunsko	1	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Slovensko	1	Marhold K.	Májovský J., Murín A. a kol.	1987	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Slovensko	12	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Slovensko	25	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Slovensko	4	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Neuffer B.	2000	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Slovensko	2	Lihová J.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T.F.	2004	

<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Ukrajina	4	Marhold K.	Marhold K.	1992	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Ukrajina	9	Marhold K.	Marhold K.	1994	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Ukrajina	2	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979	
<i>C. amara</i> subsp. <i>opicii</i> (J. Presl & C. Presl) Čelak.	2n=16	Ukrajina	1	Pashuk K. T.	Pashuk K. T.	1987	
<i>C. amara</i> subsp. <i>pyrenaea</i> Sennen	2n=16	Španělsko	14	Marhold K.	Lihová J., Marhold K., Neuffer B.	2000	
<i>C. amara</i> subsp. <i>pyrenaea</i> Sennen	2n=16	Španělsko	2	Marhold K.	Marhold K., Lihová J., Perný M., Grupe R., Neuffer B.	2002	
<i>Cardamine</i> <i>amporitana</i> Sennen & Pau	2n=32	Itálie	11	Lihová J.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T. F.	2004	
<i>Cardamine</i> <i>amporitana</i> Sennen & Pau	2n=32	Španělsko	3	Lihová J.	Lihová J., Marhold K., Neuffer B.	2000	
<i>Cardamine</i> <i>amporitana</i> Sennen & Pau	2n=32	Španělsko	5	Lihová J.	Lihová J., Marhold K., Tribsch A., Stuessy T. F.	2004	

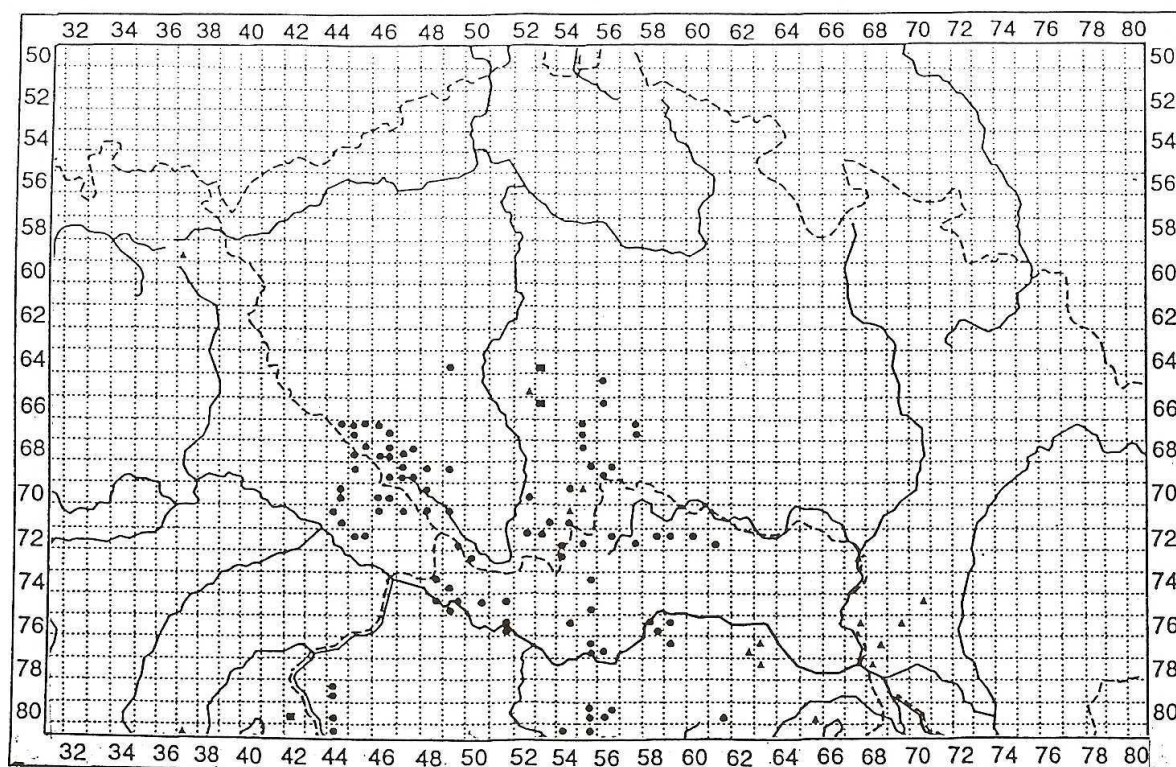
Na území České republiky jsou známy tři poddruhy (*Cardamine amara* subsp. *amara*, *C. amara* subsp. *opicii* a *C. amara* subsp. *austriaca*) jejichž celkové rozšíření v Evropě je uvedeno v tabulce 1.

*Cardamine amara* subsp. *amara* se na území celé Evropy vyskytuje převážně v oblastech o nižších a středních nadmořských výškách. Na horských hřebetech je vystřídána *C. amara* subsp. *opicii*, *C. amara* subsp. *austriaca* a *C. amara* subsp. *pyrenaea*. *Cardamine amara* subsp. *opicii* je rozšířena ve vyšším horském až subalpínském pásu Sudetských pohoří a Karpat. Nalézají se v České republice, Polsku, Slovensku, na Ukrajině a v Rumunsku (Marhold 1992a, 1994, Hrouda & Marhold 1993, Lihová *et al.* 2000). *Cardamine amara* subsp. *austriaca* se vyskytuje ve východních Alpách a přilehlých oblastech a zasahuje i do ČR. Nalézají se v širokém výškovém rozpětí sahajícím od nadmořských výšek Dunaje až do 2500 m n. m., což indikuje, že je ekologicky přizpůsobivější než ostatní poddruhy tohoto druhu (Marhold & Valachovič 1998, Marhold *et al.* 2002a). Výskyt *C. amara* subsp. *austriaca* byl zjištěn v Německu, Švýcarsku, Rakousku, Itálii, České republice (Marhold 1999b), Slovinsku (Lihová & Marhold 2003) a Chorvatsku (Kučera & Marhold 2006).

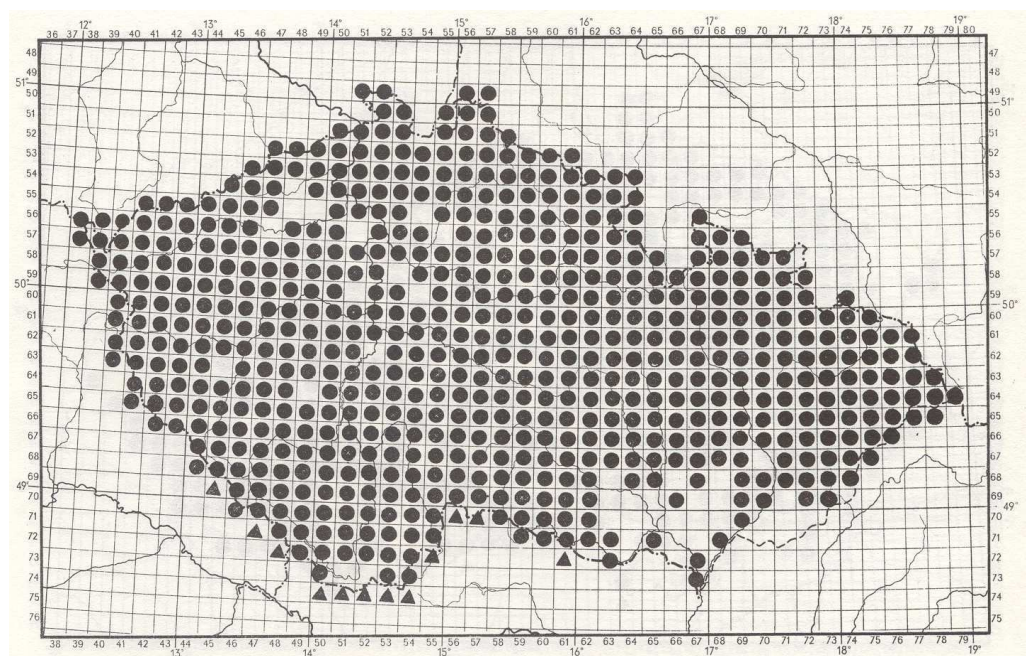
V České republice se *Cardamine amara* subsp. *opicii* se vyskytuje jen na malé části severních Čech (obr. 3). Zatímco rozšíření diploidů (*C. a.* subsp. *amara*) a tetraploidů (*C. a.* subsp. *austriaca*) se často překrývá, ale je zde znatelná tendence tetraploidů osidlovat lokality ve vyšších nadmořských výškách a diploidů v nižších, jak je viditelné v jižních Čechách i oblasti Švýcarska. Oblast rozšíření tetraploidních populací úzce souvisí s oblastí ovlivněnou pleistocénním zaledněním (Marhold 1999b). Mapy rozšíření taxonů na území České republiky na základě dosavadních poznatků zachycují obrázky 3, 4, 5.



Obr. 3: Mapa rozšíření *Cardamine amara* subsp. *opicii* v Sudetských pohořích (Hrouda & Marhold 1993).



Obr. 4: Mapa rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* (●) a subsp. *austriaca* (▲) v České republice a přilehlých oblastech Německa a Rakouska, (■ oba poddruhy se vyskytují ve stejném kvadrantu) (Marhold 1999a).



Obr. 5: Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* a subsp. *austriaca* v ČR (● - prezence taxonu, ▲ – výskyt v pohraničním poli, ale již za hranicemi ČR) (Slavík 1986), (mapa uveřejněná pro poddruh *C. amara* subsp. *amara*, zahrnuje též populace později popsané jako *C. amara* subsp. *austriaca*).

Detaily rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* a *C. amara* subsp. *austriaca* v ČR nebyly dosud známe. Nejpodrobnější mapa rozšíření tetraploidních populací byla uveřejněna v habilitační práci K. Marholda (Marhold 1999a) ale i tato mapa spíše jen naznačuje areál nedávno popsaného druhu v ČR (obr. 4).

### Reprodukční způsoby

V rámci druhu *Cardamine amara* se vyskytují dva základní typy rozmnožovacích způsobů, sexuální a klonální. Převážně se jedná o alogamické, entomogamní zástupce, kteří jsou zároveň schopni značného laterálního šíření pomocí vegetativních výběžků. Tento vegetativní způsob rozmnožování umožňuje lokální šíření genotypů, které nemusí být schopné se jinak rozmnožovat. *C. amara* se rozšiřují anemochorně a hydrochorně (Hrouda 1992).

### Ekologický a fytocenologický charakter

Druh *Cardamine amara* se vyskytuje na prameništích zejména na subalpínských, lesních a lučních prameništích s nízkostébelnou trávou nebo mechobylinnou vegetací, dále na březích vodních toků, v olšinách podél menších vodních toků, vzácněji v příkopech podél lesních cest či na náplavech a terénních sníženinách s hladinou podzemní vody v malé hloubce. Občas je možné ji najít na slunečných svazích, kde vyvěrá voda z pramenů. Svě uplatnění nalézá ale i v znečištěných strouhách a příkopech. Roste na vlhkých, humózních i kamenitých, vodou sycených, bázemi a živinami bohatých půdách (Hrouda 1992, Lövkvist 1957, Hájek 2001, Neuhäuslová 2001).

*Cardamine amara* patří do skupiny diagnostických druhů třídy *Montio-Cardaminetea* Br.-Bl. & Tüxen ex Klika 1948, která obsahuje svazy *Cardamino-Montion* Br.-Bl. 1926, *Cardaminion amarae* Maas 1959, dále pak je diagnostickým druhem svazu *Anion incanae* Pawłowski *et al.* 1928 a jeho podvazu *Alnenion glutinoso-incanae* Oberdorfer 1953. Jako dominantní druh se objevuje ve svazu *Swertio-Anisothecion squarrosi* Hadač 1983 (Chytrý & Tichý 2003). Také se vyskytuje ve svazech *Alnion glutinosae* Malcuit 1929, *Salicion cinerae* Th. Müller & Görs 1958, *Salicion albae* Th. Müller & Görs 1958, *Caricion rostrae* Bal.-Tul. 1963, *Caricion davallianae* Klika 1934 (Marhold 1995) a *Lycopodo-Cratoneurion commutati* Hadač 1983 (Hájek 2001).

## 2.2. Taxonomické zařazení druhu *Cardamine amara*

Eu- Rosids II – „Malvidy“

Řád Brassicales

Čeleď *Brassicaceae*

Rod *Cardamine* L.

Druh *Cardamine amara* L.

Rod *Cardamine* popsal Linnaeus (1753: 653), v této práci byl společně s ním popsán i rod *Dentaria* (1753: 654). V roce 1769 byly rody sjednoceny Crantzem (1769) pod jménem *Cardamine* (Al-Shehbaz 1988). Pozice rodu *Dentaria* byla často diskutována (Franzke *et al.* 1998). Nynější molekulární systematické studie (Franzke & Mummenhoff 1999, Sweney & Price 2001) podporují široce chápaný rod *Cardamine* a předpokládají, že druhy zahrnuté Jones & Akeroyd (1993, *Florae Europaea*) do podrodu *Dentaria* netvoří monofyletickou skupinu (Marhold 1999a). Samotný druh *Cardamine amara* popsal Linnaeus v díle *Species Plantarum* (1753: 656).

## 2.3. Podrobná morfologická charakteristika

Morfologicky můžeme okruh rozdělit do 5 poddruhů a jednoho samostatného druhu. Taxonomicky hodnotitelná variabilita je omezená na kvantitativní znaky vyjma *Cardamine amporitana*, která se navíc liší žlutou barvou prašníků. Rozdíly mezi diploidními poddruhy zahrnují např.: počet lodyžních listů, počet lístků lodyžních listů a šířku lodyhy na bázi (Marhold 1999b).

Tetraploidní taxon *C. amara* subsp. *austriaca* je morfologicky velmi podobný jeho pravděpodobně diploidnímu předku. Minimální morfologické rozdíly byly potvrzeny na základě morfometrických analýz. Jediným zcela spolehlivým znakem je velikost pylových zrn, zatímco ostatní znaky, jako počet listů, počet lístků na listech a velikost některých květních částí se překrývají. Tato slabá morfologická diferenciacce tohoto taxonu vede k hypotéze jeho relativně nedávného vzniku (Marhold 1999b, Marhold *et al.* 2002a, Lihová & Marhold 2003).

Tato práce se zaměřuje na poddruhy *Cardamine amara* subsp. *amara* a subsp. *austriaca*, proto níže uvádím jejich podrobné morfologické popisy.



### 2.3.1. *Cardamine amara* subsp. *amara*

Trvalka, 10–60 cm vysoká bylina, často křehká. Lodyha plná, na bázi vystoupavá, rovná či mírně křivolaká, 1–6 mm na bázi široká. Lodyhy jsou větvené a vedlejší větve jsou květonosné. Listy jsou v obrysu eliptické až podlouhlé, nepravidelně laločnaté až zubaté, obvykle lysé. Lodyžní listy v počtu (2–) 3–14 (–24) jsou rovnoměrně rozložené na lodyze, 2–6 (–7) jařmé, lístky přisedlé (pouze dolní jařma dolních listů často řapíkatá), v obrysu eliptické až podlouhlé, nepravidelně laločnaté až zubaté. Oddenek je tenký dlouze plazivý a výběžkatý. Květenství 2–40květé a je tvořeno jedním či několika hrozny, na lodyžních větvích. Kališní lístky (2,8–) 2,9–4,2 (–4,5) mm dlouhé a korunní lístky (6,1–) 6,8–9,7 (–10,2) mm dlouhé, bílé až vzácně narůžovělé. Nitky delších tyčinek (3,8–) 4,7–6,9 (–7,3) mm dlouhé. Tyčinky v počtu 6 s prašníky fialové barvy, vzácně žlutavě bílé (Jones 1964). Mladé šesule nepřesahují horní květy. Průměrná velikost pylových zrn je 18,0–20,4  $\mu\text{m}$  (Lihová & Marhold 2003). Kvete během dubna a května.  $2n=16$  (Hegi 1986, Hrouda 1992, Marhold 1993, 1995, Marhold & Kochjarová 2002) (obr. 6A).



Obr. 6: A – *Cardamine amara* subsp. *amara* (Marhold 1995), B – *Cardamine amara* subsp. *austriaca* (měřítko = 5cm) (Marhold 1999b).

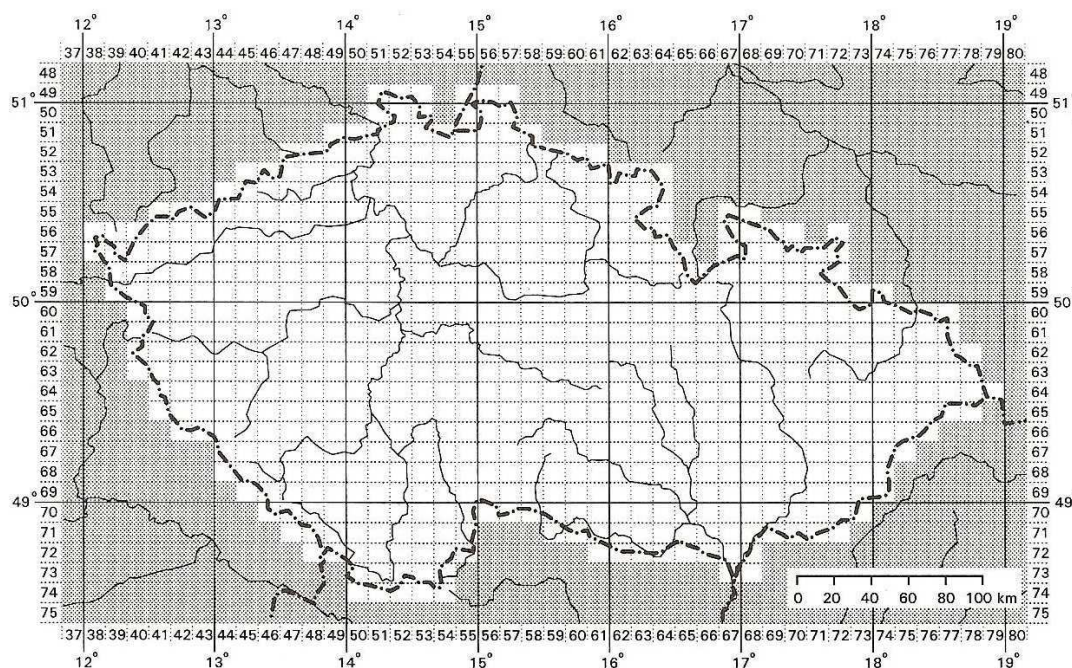
### 2.3.2. *Cardamine amara* subsp. *austriaca*

Trvalka, 10–60 cm vysoká, oddenek dlouhý, plazivý (1–) 1,5–5 (–6,5) mm široký. Lodyha vzpřímená, občas křivolaká, jednoduchá nebo větvená, lysá či řídce chlupatá. Listy nejsou v růžici, lodyžní listy v počtu (4–) 5–15 (–18), s 3–6 (–7) jařmových lístků, přisedlé či krátce řapíkaté, podlouhlé až téměř okrouhlé, skoro celokrajné nebo laločnaté, vroubkované, občas řasnaté, lysé nebo s přitisklými chlupy na vrchním povrchu. Květenství hroznovitá, s jedním či několika hrozny, (4–) 6–30 (–35) květů na hlavním květenství. Kališní lístky (3,1–) 3,5–4,9 (–5,2) mm dlouhé, lysé. Korunní lístky bílé, vzácně zejména v poupěti načervenalé fialové, obvejčitý až obkopinaté, (6,4–) 7,3–10,2 (–10,8) mm dlouhé. Tyčinek 6, nitka delších tyčinek (4,9–) 5,4–7,3 (–7,8) mm dlouhé, prašníky načervenalé fialové až načernalé fialové. Průměrná velikost pylových zrn je (22,99–) 23,33–25,39 (–25,72)  $\mu\text{m}$ . Kvete od dubna do června (Marhold 1999b) (obr. 6B).

### 3. MATERIÁL

Během roku 2007 a 2008 byl nashromážděn rostlinný materiál na území České republiky, ale i Slovenska, Rakouska a Německa. Celkem byl nasbírán materiál z 302 lokalit, 292 z České republiky, 3 ze Slovenska, 2 z Rakouska a 5 lokalit z Německa.

Lokality byly na území České republiky vyhledány v terénu dle rázu krajiny a byly zařazeny do sítě středoevropského mapování (obr. 7) (Niklfeld 1971, Slavík 1985). Při výběru lokalit bylo cílem, aby každé základní pole v síti středoevropského mapování bylo zastoupeno jednou lokalitou, a zároveň aby byly zastoupeny odlišné fytogeografické okresy (Skalický 1997). Zahraniční lokality byly navštíveny na základě údajů z literatury (Marhold 1999a, 1999b, Lihová & Marhold 2003). Tyto lokality byly zařazeny s cílem získat srovnávací materiál pro molekulární analýzy. Jednotlivé populace byly zaměřeny pomocí GPS navigačního přístroje Garmin eTrex za použití souřadnicového systému WGS 84.



Obr. 7: Mapa ČR s vyznačenou sítí středoevropského mapování (Slavík 2000).

Celkem jsem prozkoumala 358 základních polí sítě středoevropského mapování. Druh *Cardamine amara* jsem našla v 302 základních polích. V 56 základních polích sítě středoevropského mapování nebyly poddruhy *Cardamine amara* subsp. *amara* ani subsp. *austriaca* nalezeny (obr. 8).

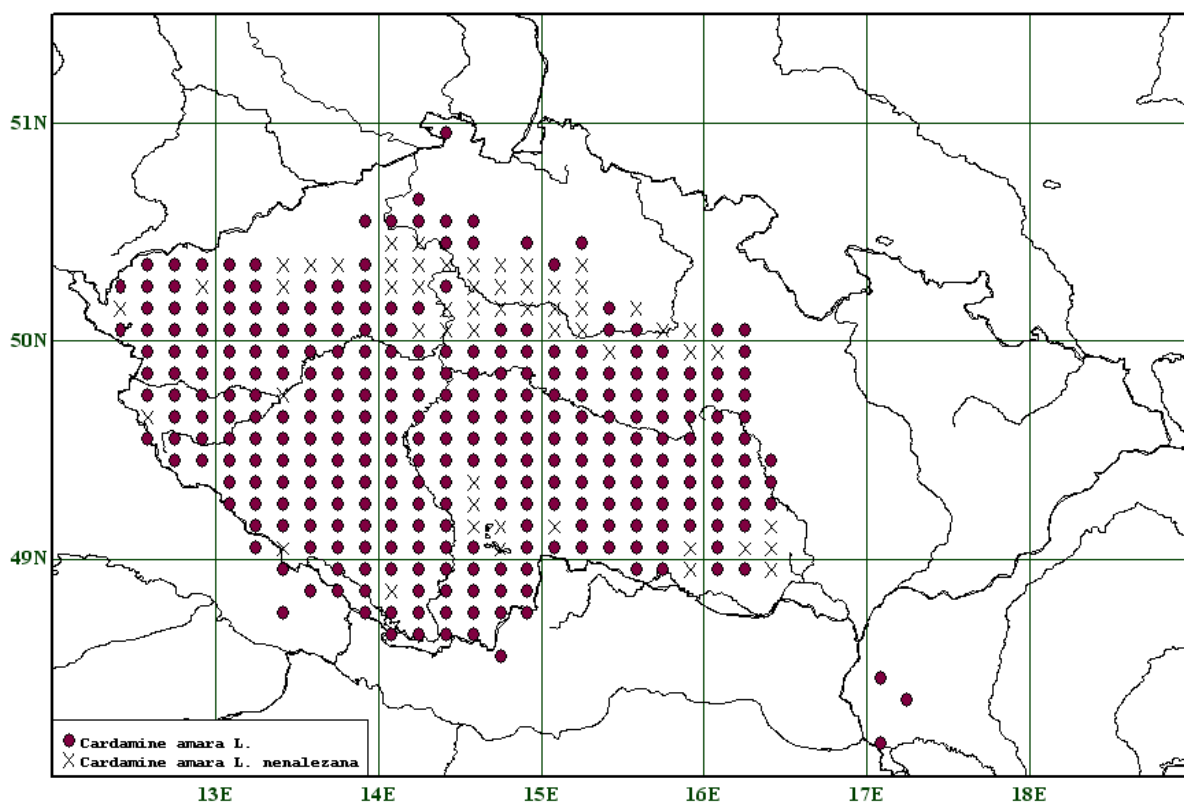
Rostliny pro cytometrické měření byly sbírány v průběhu března až května, byly odebírány ve dvou a více metrové vzdálenosti od sebe dle charakteru lokality, aby byla postižena co největší možná variabilita. Z každé populace bylo standardně odebráno deset rostlin. Rostliny odebrané na lokalitách byly následně pěstovány na pozemcích Katedry botaniky PřF UK. V době květu byly na rostlinách provedeny cytometrické analýzy. Rostlinný materiál byl analyzován z 299 lokalit (tab. 3) (materiál ze Slovenska pocházel z lokalit se známým počtem chromozómů a tudíž nebyl opětovně analyzován) a celkem bylo analyzováno 3266 rostlin. Z cytometricky analyzovaných populací byly zhotoveny herbářové položky.

Pro analýzu AFLP byly do silikagelu odebrány listy od cytometricky změřených rostlin z vybraných lokalit. Celkem bylo analyzováno 149 rostlin z 25 lokalit. Lokality byly vybrány z populací cytometricky analyzovaných v roce 2007 (tab. 3). Jednotlivé populace byly zvoleny dle zastoupení ploidii a to jak v oblastech výskytu jedné ploidie, tak v oblastech kde se ploidie potkávaly.

Na podzim 2007 byly sebrány rostliny z cytotypově čistých populací pro počítání chromozómů (z již cytometricky změřených lokalit na jaře 2007) a následně pěstovány ve standardizovaných podmínkách na experimentálních pozemcích katedry botaniky PřF UK. Počet chromozómů na triploidních rostlinách byl stanoven u cytometricky změřených rostlin, které byly na pozemcích katedry pěstovány již od jara 2007. Celkem byly počítány chromozómy na devíti rostlinách z pěti lokalit (tab. 3).

U pěti smíšených lokalit s výskytem více cytotypů (6042, 6045, 6254, 6353, 6543) bylo následující sezónu odebráno 30–80 rostlin (podle početnosti populace) pro prostorové analýzy smíšených populací. Rostliny byly odebírány za květu v tří metrové vzdálenosti. Během sběru byla zaznamenána poloha každého jedince.

Herbářové položky z jednotlivých lokalit budou uloženy v herbářových sbírkách katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (herbář PRC).



Obr. 8: Síťová mapa lokalit zkoumaných v rámci této studie.

Tab. 3: Přehled všech lokalit zkoumaných v rámci této studie. Populace, ze kterých jsem počítala chromozómy, jsou znázorněné symbolem \*, populace analyzované metodou AFLP symbolem ⊗.

Pořadí	Číslo základního pole = číslo lokality	Název lokality	Fytogeografický okres	GPS souřadnice (WGS-84)	Nadmořská výška (m n.m.)	DNA ploidní stupeň	Počty chromozómů * Analýza AFLP ⊗
1	5052	Mikulášovice	47. Šluknovská pahorkatina	N50° 57' 28,6'' E14° 21' 42,7''	428	2x	
2	5351	Hradec	45. Verneřické středohoří; a – Lovečkovické středohoří	N50° 36' 27,8'' E14° 17' 13,9''	346	2x	⊗
3	5449	Velemín	4. Lounsko-labské středohoří; b – Labské středohoří	N50° 32' 36,7'' E14° 00' 15,0''	282	2x	⊗
4	5450	Opárenské údolí	4. Lounsko-labské středohoří; b – Labské středohoří	N50° 32' 24,2'' E13° 58' 48,2''	222	2x	
5	5451	Starý Mlýnec	45. Verneřické středohoří; a – Lovečkovické středohoří	N50° 35' 16,0'' E14° 13' 06,7''	268	2x	
6	5452	Zakšín	51. Polomené hory	N50° 31' 33,1'' E14° 29' 36,2''	262	2x+4x	
7	5453	Rozprechtice	51. Polomené hory	N50° 31' 33,4'' E14° 32' 52,4''	248	2x	
8	5552	Želízy	51. Polomené hory	N50° 25' 41,7'' E14° 27' 56,2''	195	2x	
9	5553	Taboř	51. Polomené hory	N50° 29' 06,6'' E14° 36' 10,7''	267	2x	*
10	5555	Velký Rečkov	52. Ralsko-bezděžská tabule	N50° 29' 55,7'' E14° 54' 08,2''	305	2x	⊗
11	5557	Samšina	55. Český ráj; c – Rovenská pahorkatina	N50° 27' 24,5'' E15° 14' 14,0''	304	2x	
12	5641	Kraslice	22. Halštrovská vrchovina	N50° 18' 40,7'' E12° 31' 56,1''	398	2x	
13	5642	Nejdek	85. Krušné hory	N50° 20' 54,3'' E12° 46' 14,5''	909	4x	
14	5643	Abertamy	85. Krušné hory	N50° 22' 07,4'' E12° 50' 08,9''	869	4x	
15	5644	Srní	25. Krušnohorské podhůří; a – Krušnohorské podhůří vlastní	N50° 22' 21,5'' E13° 00' 55,5''	926	4x	
16	5645	Brodce	1. Doupovská pahorkatina	N50° 20' 50,1'' E13° 13' 40,4''	437	2x	
17	5649	Peruc	7. Středočeská tabule; a – Libochovická tabule	N50° 20' 57,6'' E13° 57' 29,2''	258	4x	
18	5656	Prodašice	13. Rožďalovická pahorkatina; a – Rožďalovická tabule	N50° 20' 34,3'' E15° 08' 04,0''	234	2x	

19	5740	Smrčina	22. Halštrovská vrchovina	N50° 14' 03,0'' E12° 22' 18,0''	505	2x+4x	
20	5741	Krajková	22. Halštrovská vrchovina	N50° 13' 24,3'' E12° 30' 18,6''	416	4x	
21	5742	Vřesová	25. Krušnohorské podhůří; a – Krušnohorské podhůří vlastní	N50° 16' 05,4'' E12° 41' 16,7''	604	2x	
22	5744	Velichov	29. Doupovské vrchy	N50° 17' 11,6'' E13° 00' 00,6''	385	2x+4x	
23	5745	Nová Ves I	1. Doupovská pahorkatina	N50° 12' 08,5'' E13° 16' 25,0''	496	2x	
24	5747	Deštnice	6. Džbán	N50° 13' 55,0'' E13° 36' 30,7''	344	2x	
25	5748	Domoušice	6. Džbán	N50° 14' 24,8'' E13° 44' 15,8''	332	2x	⊗
26	5749	Srbeč	6. Džbán	N50° 13' 33,5'' E13° 53' 59,3''	303	2x	
27	5752	Vodochody	9. Dolní Povltaví	N50° 12' 21,8'' E14° 23' 55,6''	230	4x	
28	5841	Kostelní Bříza	86. Slavkovský les	N50° 06' 30,2'' E12° 38' 12,8''	587	4x	
29	5842 A	Horní Slavkov	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	N50° 07' 52,5'' E12° 48' 10,8''	564	4x	
30	5842 B	Rovná	86. Slavkovský les	N50° 06' 05,3'' E12° 41' 20,1''	750	4x	
31	5843	Vodná	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	N50° 06' 40,0'' E12° 51' 47,5''	581	2x	
32	5844	Údrč	28. Tepelské vrchy; e – Žlutická pahorkatina	N50° 07' 48,3'' E13° 05' 08,4''	608	2x	
33	5845	Kostrč	1. Doupovská pahorkatina	N50° 09' 14,9'' E13° 15' 33,1''	483	2x	
34	5846	Bílenec	2. Střední Poohří; b – Podbořanská kotlina	N50° 08' 15,3'' E13° 27' 39,7''	366	2x	
35	5847	Vrbice	2. Střední Poohří; b – Podbořanská kotlina	N50° 10' 16,3'' E13° 31' 22,5''	331	2x	⊗
36	5848	Lužná II	30. Jesenicko-rakovnická plošina; b – Rakovnická kotlina	N50° 08' 12,9'' E13° 47' 26,3''	382	2x	
37	5849	Lánská obora	32. Křivoklátsko	N50° 06' 15,3'' E13° 52' 57,0''	348	2x	*
38	5850	Saky	7. Středočeská tabule; c – Slánská tabule	N50° 11' 47,6'' E14° 05' 42,2''	252	2x	
39	5851	Kováry	7. Středočeská tabule; d – Bělohorská tabule	N50° 11' 01,1'' E14° 14' 46,6''	231	2x	
40	5858	Pamětník	14. Cidliňská pánev; a – Bydžovská pánev	N50° 07' 23,5'' E15° 27' 15,1''	220	2x	
41	5940	Stebnice	24. Horní Poohří; a – Chebská pánev	N50° 03' 13,3'' E12° 26' 49,7''	445	4x	
42	5941	Lázně Kynžvart	86. Slavkovský les	N50° 00' 47,0'' E12° 38' 38,5''	869	4x	
43	5942	Starý Dvůr	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	N50° 05' 00,7'' E12° 49' 15,0''	518	2x+4x	

44	5943	Bečov	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	N50° 04' 46,2'' E12° 50' 18,8''	447	4x	
45	5944	Smilov	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	N50° 03' 39,0'' E13° 03' 00,2''	598	2x	
46	5945	Chyšě	28. Tepelské vrchy; e – Žlutická pahorkatina	N50° 06' 32,9'' E13° 16' 25,7''	487	2x	
47	5946	Odlezly	30. Jesenicko-rakovnická plošina; a – Jesenická plošina	N50° 01' 16,1'' E13° 22' 13,9''	433	2x	
48	5947	Svatý Hubert	30. Jesenicko-rakovnická plošina; a – Jesenická plošina	N50° 04' 14,0'' E13° 31' 13,5''	532	2x	
49	5948	Panoší Újezd	32. Křivoklátsko	N50° 02' 08,3'' E13° 43' 05,3''	451	2x	
50	5949	Roztoky	32. Křivoklátsko	N50° 01' 01,2'' E13° 51' 47,6''	252	2x	
51	5950	Dolní Podkozí	32. Křivoklátsko	N50° 03' 07,9'' E14° 07' 26,4''	304	2x	
52	5954	Babice	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	N50° 00' 33,5'' E14° 42' 25,9''	403	2x	
53	5955	Krupá	64. Říčanská plošina; c – Černokostelecký perm	N50° 00' 09,0'' E14° 52' 03,9''	367	2x	
54	5958	Selmice	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	N50° 02' 59,1'' E15° 26' 04,5''	209	2x	
55	5959	Veselí	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	N50° 00' 26,0'' E15° 37' 18,3''	232	2x	
56	5962	Rousínov	61. Dolní Poorličí; c – Chvojenská plošina	N50° 02' 45,7'' E16° 07' 53,4''	280	2x	
57	5963	Kostelecké Horky	61. Dolní Poorličí; b – Tyništský úval	N50° 03' 04,8'' E16° 11' 55,4''	296	2x	
58	6041	Jedlová	26. Český les	N49° 58' 31,0'' E12° 35' 31,2''	596	4x	
59	6042	Pístov	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	N49° 54' 55,3'' E12° 45' 28,0''	511	2x+4x	
60	6043	Hanov	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	N49° 55' 49,4'' E12° 52' 37,5''	683	4x	
61	6044	Chudeč	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	N49° 58' 25,6'' E13° 04' 04,8''	641	2x	
62	6045	Lipí	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 58' 38,1'' E13° 14' 39,3''	436	2x+3x+4x	⊗ *
63	6046	Mladotice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 58' 26,3'' E13° 21' 46,3''	322	2x	
64	6047	Kralovice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 58' 15,7'' E13° 30' 38,7''	406	2x	
65	6048	Terešovská huť	32. Křivoklátsko	N49° 54' 35,6'' E13° 42' 13,2''	362	4x	
66	6049	Karlova Ves	32. Křivoklátsko	N49° 59' 31,8'' E13° 51' 39,3''	419	2x	
67	6050	Králův Dvůr	8. Český kras	N49° 56' 32,1'' E14° 02' 41,9''	234	2x	
68	6051	Dolní Roblín	8. Český kras	N49° 57' 55,7'' E14° 13' 17,9''	344	2x	



69	6052	Libeň	64. Říčanská plošina; a – Průhonická plošina	N49° 56' 11,1'' E14° 28' 24,3''	352	2x	
70	6053	Průhonický park	64. Říčanská plošina; a – Průhonická plošina	N49° 59' 25,0'' E14° 33' 18,0''	307	2x	
71	6054	Jevany	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	N49° 57' 24,9'' E14° 45' 55,6''	473	2x	
72	6055	Prusice	64. Říčanská plošina; c – Černokostelecký perm	N49° 57' 47,2'' E14° 53' 01,7''	295	2x	
73	6056	Jindice	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 54' 43,2'' E15° 05' 03,0''	412	2x	
74	6057	Bylany	65. Kutnohorská pahorkatina	N49° 55' 32,3'' E15° 12' 38,6''	338	2x	
75	6059	Zbyslavce	69. Železné hory ; b – Sečská vrchovina	N49° 54' 13,1'' E15° 35' 13,0''	513	2x	
76	6060	Zbyhňovice	69. Železné hory ; b – Sečská vrchovina	N49° 54' 09,5'' E15° 42' 48,9''	399	2x	
77	6063	Zaháj	62. Litomyšlská pánev	N49° 57' 23,8'' E16° 13' 28,9''	273	2x	
78	6141	Březí	27. Tachovská brázda	N49° 50' 22,2'' E12° 38' 10,3''	535	4x	
79	6142	Planá	27. Tachovská brázda	N49° 51' 43,6'' E12° 43' 05,2''	474	4x	
80	6143	Lestkov	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	N49° 52' 49,5'' E12° 53' 00,6''	566	4x	
81	6144	Hvozdčany	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	N49° 52' 34,4'' E13° 07' 49,8''	510	2x	
82	6145	Kokořov	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 50' 19,4'' E13° 16' 06,7''	440	2x	
83	6146	Jarov	32. Křivoklátsko	N49° 51' 40,2'' E13° 28' 43,8''	300	4x	
84	6147	Kamenec	32. Křivoklátsko	N49° 52' 56,2'' E13° 36' 44,8''	360	2x+4x	
85	6148	Přisednice	32. Křivoklátsko	N49° 52' 50,4'' E13° 44' 01,1''	367	4x	
86	6149	Pod Hrází	32. Křivoklátsko	N49° 53' 48,3'' E13° 53' 23,5''	303	2x	
87	6150	Nesvačily	8. Český kras	N49° 52' 54,2'' E14° 07' 28,5''	320	2x	
88	6151	Čisovice	41. Střední Povltaví	N49° 51' 20,1'' E14° 19' 13,3''	362	2x	
89	6152	Štěchovice	41. Střední Povltaví	N49° 50' 24,6'' E14° 24' 12,7''	236	2x	
90	6153	Čakovice	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	N49° 53' 11,2'' E14° 34' 58,4''	308	2x	
91	6154	Soběhrdy	41. Střední Povltaví	N49° 49' 41,0'' E14° 44' 52,5''	389	2x	
92	6155	Sázava	41. Střední Povltaví	N49° 51' 45,3'' E14° 53' 02,9''	351	2x	
93	6156	Čestín	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 48' 32,6'' E15° 06' 04,7''	452	4x	
94	6157	Chlístovice	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 53' 08,1'' E15° 12' 42,5''	363	4x	

95	6158	Kamenné mosty	65. Kutnohorská pahorkatina	N49° 51' 45,6'' E15° 29' 43,0''	210	2x+4x	
96	6159	Seč	69. Železné hory ; b – Sečská vrchovina	N49° 49' 31,0'' E15° 38' 18,1''	474	4x	
97	6160	Kovářov	69. Železné hory ; b – Sečská vrchovina	N49° 51' 04,0'' E15° 40' 38,9''	444	2x	
98	6161	Ležáky	69. Železné hory ; b – Sečská vrchovina	N49° 49' 58,5'' E15° 54' 06,1''	397	2x	
99	6162	Bílý kůň	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	N49° 52' 30,7'' E16° 04' 58,4''	229	2x	
100	6163	Višňáry	62. Litomyšlská pánev	N49° 52' 07,4'' E16° 15' 32,7''	326	2x	
101	6241	Velký Rapotín	27. Tachovská brázda	N49° 45' 59,2'' E12° 39' 01,1''	500	4x	
102	6242	Trnová	27. Tachovská brázda	N49° 46' 40,0'' E12° 41' 22,2''	471	4x	
103	6243	Svojšín	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	N49° 46' 07,7'' E12° 55' 06,1''	392	4x	
104	6244	Sytno	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 44' 39,6'' E13° 03' 11,9''	422	2x	⊗
105	6245	Kozolupy	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 45' 43,0'' E13° 14' 18,3''	353	4x	⊗
106	6247	Habr	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	N49° 47' 13,4'' E13° 38' 33,2''	447	4x	
107	6248	Hůrky I	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	N49° 44' 44,1'' E13° 40' 22,1''	425	4x	
108	6249	Sádek	35. Podbrdsko; c – Příbramské Podbrdsko	N49° 43' 53,5'' E13° 58' 58,2''	480	4x	⊗
109	6250	Drátovna	35. Podbrdsko; c – Příbramské Podbrdsko	N49° 43' 35,6'' E14° 01' 01,7''	449	2x	⊗
110	6251	Daleké Dušníky	41. Střední Povltaví	N49° 43' 38,7'' E14° 11' 02,4''	389	2x	
111	6252	Chotilsko	41. Střední Povltaví	N49° 46' 15,4'' E14° 21' 07,8''	340	2x	
112	6253	Borovka	41. Střední Povltaví	N49° 46' 08,7'' E14° 31' 38,5''	379	2x+4x	
113	6254	Hlíňánky	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	N49° 44' 32,8'' E14° 43' 20,3''	405	2x+3x	
114	6255	Bílkovice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	N49° 45' 34,1'' E14° 52' 16,9''	335	4x	
115	6256	Trhový Štěpánov	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	N49° 42' 29,8'' E15° 00' 30,9''	381	4x	
116	6257	Hamry	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 43' 02,3'' E15° 16' 50,9''	385	4x	
117	6258	Kunemil	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 42' 24,0'' E15° 25' 55,0''	475	4x	

118	6259	Klouzovy	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 44' 05,7'' E15° 37' 07,9''	519	4x	
119	6260	Jeníkovec	65. Kutnohorská pahorkatina	N49° 46' 02,6'' E15° 41' 34,2''	420	2x+4x	
120	6261	Kameničky	91. Žďárské vrchy	N49° 42' 59,9'' E15° 59' 10,8''	638	4x	
121	6262	Cetkytle	91. Žďárské vrchy	N49° 45' 05,2'' E16° 08' 17,4''	654	2x	
122	6263	Třemošná	63. Českomoravské mezihoří; e – Poličko	N49° 45' 06,5'' E16° 14' 27,8''	481	3x	
123	6342	Borek	27. Tachovská brázda	N49° 38' 02,3'' E12° 46' 33,3''	466	4x	
124	6343	Darmyšl	28. Tepelské vrchy; g – Sedmihoří	N49° 37' 53,9'' E12° 54' 21,2''	441	2x	
125	6344	Hradišřany	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 37' 49,3'' E13° 01' 55,4''	402	2x	⊗
126	6345	Stod	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 38' 13,3'' E13° 10' 10,4''	335	4x	⊗
127	6346	Předenice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 37' 30,2'' E13° 23' 30,1''	371	4x	
128	6347	Kornatice	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	N49° 39' 35,7'' E13° 35' 40,0''	415	4x	
129	6348	Strnadův mlýn	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	N49° 40' 49,1'' E13° 41' 19,2''	469	4x	
130	6349	Láz	35. Podbrdsko; d – Březnické Podbrdsko	N49° 39' 01,3'' E13° 56' 03,8''	555	4x	⊗
131	6350	Višňová	41. Střední Povltaví	N49° 41' 53,6'' E14° 08' 38,5''	420	2x	⊗
132	6351	Chvojná	41. Střední Povltaví	N49° 39' 23,6'' E14° 11' 07,1''	368	2x	
133	6352	Vysoký Chlumeč	41. Střední Povltaví	N49° 37' 28,6'' E14° 22' 06,6''	487	2x	
134	6353	Vojtkov	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	N49° 38' 57,5'' E14° 31' 29,7''	432	2x+4x	
135	6354	Hráze	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 37' 07,4'' E14° 41' 10,9''	581	4x	
136	6355	Kuňovice	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 40' 27,4'' E14° 57' 30,9''	486	4x	
137	6356	Borovnice	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 38' 35,5'' E15° 01' 07,4''	442	4x	
138	6357	Vilémovice	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 41' 37,1'' E15° 18' 36,9''	401	4x	
139	6358	Kejžlice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 36' 17,7'' E15° 22' 58,8''	455	4x	
140	6359	Rozsochatec	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 40' 53,9'' E15° 38' 22,5''	489	4x	

141	6360	Macourov	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 37' 19,6'' E15° 44' 02,2''	490	4x	
142	6361	Cikháj	91. Žďárské vrchy	N49° 39' 28,9'' E15° 58' 16,4''	668	3x+2x	
143	6362	Kuklík	91. Žďárské vrchy	N49° 37' 32,4'' E16° 06' 37,1''	640	4x	
144	6363	Telecí	67. Českomoravská vrchovina	N49° 41' 37,5'' E16° 10' 51,8''	550	4x	
145	6441	Karlova Huť	26. Český les	N49° 35' 01,1'' E12° 37' 27,1''	538	4x	
146	6442	Štitary	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 33' 58,6'' E12° 49' 05,3''	380	4x	
147	6443	Srby	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 32' 11,9'' E12° 52' 12,7''	391	2x+4x	
148	6444	Vytuň	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 33' 22,5'' E13° 06' 06,4''	388	2x+4x	
149	6445	Hráz	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 31' 34,7'' E13° 10' 13,8''	398	4x	
150	6446	Renče	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 33' 43,9'' E13° 24' 40,9''	314	2x	
151	6447	Vlčice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 34' 11,9'' E13° 32' 46,9''	388	4x	
152	6448	Hvoždany	87. Brdy	N49° 32' 13,6'' E13° 49' 16,6''	543	4x	
153	6449	Vacíkov	87. Brdy	N49° 32' 24,3'' E13° 51' 58,1''	559	4x	⊗
154	6450	Podholušice	41. Střední Povltaví	N49° 34' 07,6'' E14° 06' 41,5''	492	2x	⊗
155	6451	Žebrákov	41. Střední Povltaví	N49° 31' 26,5'' E14° 13' 42,5''	472	2x	
156	6452	Natějkov	43. Votická vrchovina; a – Čertovo břemeno	N49° 30' 54,2'' E14° 27' 26,9''	528	4x	
157	6453	Střeziměř	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 31' 04,4'' E14° 36' 29,3''	559	4x	
158	6454	Vítanovice	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 35' 05,1'' E14° 45' 28,9''	435	4x	
159	6455	Těchobuz	67. Českomoravská vrchovina	N49° 31' 04,9'' E14° 55' 11,7''	538	4x	
160	6456	Košetice	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 33' 49,5'' E15° 06' 38,3''	473	4x	
161	6457	Hojanovice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 35' 51,0'' E15° 15' 55,7''	462	4x	
162	6458	Skála	67. Českomoravská vrchovina	N49° 33' 27,3'' E15° 26' 25,8''	523	4x	
163	6459	Suchá	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 33' 23,6'' E15° 34' 28,9''	492	4x	

164	6460	Ronov	66. Hornosázavská pahorkatina	N49° 34' 15,4'' E15° 46' 07,5''	457	4x	
165	6461	Zámek	91. Žďárské vrchy	N49° 34' 51,1'' E15° 56' 09,3''	575	4x	
166	6462	Divišov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 32' 54,6'' E16° 09' 31,3''	574	4x	
167	6463	Dalečín	67. Českomoravská vrchovina	N49° 35' 29,2'' E16° 14' 10,5''	491	4x	
168	6542	Pivoň	26. Český les	N49° 29' 09,3'' E12° 45' 48,7''	512	4x	
169	6543	Nový Hamr	27. Tachovská brázda	N49° 26' 00,1'' E12° 50' 22,8''	444	2x+4x	
170	6544	Radonice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 27' 31,2'' E13° 00' 23,6''	404	4x	
171	6545	Trnčí	33. Branžovský hvozd	N49° 28' 41,2'' E13° 12' 43,3''	488	4x	
172	6546	Měcholupy	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 26' 28,6'' E13° 22' 28,4''	410	4x	
173	6547	Pohankův mlýn	34. Plánický hřeben	N49° 27' 11,1'' E13° 36' 31,5''	367	4x	
174	6548	Hradiště	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	N49° 26' 10,2'' E13° 45' 17,5''	492	4x	
175	6549	Hoštišovice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	N49° 29' 09,4'' E13° 55' 27,4''	495	4x	
176	6550	Krsice	35. Podbrdsko; d – Březnické Podbrdsko	N49° 29' 04,5'' E14° 04' 28,7''	414	4x	
177	6551	Sobědraž	41. Střední Povltaví	N49° 28' 23,7'' E14° 14' 27,2''	449	2x	
178	6552	U Krajců	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	N49° 24' 46,7'' E14° 26' 13,3''	414	4x	
179	6553	Vlásenice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	N49° 27' 54,6'' E14° 33' 58,5''	517	2x	
180	6554	Vřesce	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	N49° 26' 51,9'' E14° 45' 13,7''	449	4x	
181	6555	Obrataň	67. Českomoravská vrchovina	N49° 25' 35,4'' E14° 56' 18,5''	585	4x	
182	6556	Bořetice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 28' 27,2'' E15° 05' 55,6''	515	4x	
183	6557	Pelhřimov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 24' 38,5'' E15° 13' 29,9''	517	4x	
184	6558	Vyskytná	67. Českomoravská vrchovina	N49° 25' 37,6'' E15° 22' 56,4''	612	4x	
185	6559	Plandry	67. Českomoravská vrchovina	N49° 25' 14,9'' E15° 31' 42,9''	557	4x	
186	6560	Rytířsko	67. Českomoravská vrchovina	N49° 25' 48,9'' E15° 42' 43,9''	534	4x	
187	6561	Černá	67. Českomoravská vrchovina	N49° 25' 18,3'' E15° 51' 45,5''	517	4x	

188	6562	Mirošov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 27' 52,7'' E16° 09' 00,8''	500	2x	
189	6563	Dolní Libochová	67. Českomoravská vrchovina	N49° 24' 29,1'' E16° 10' 52,4''	484	4x	
190	6564	Borač	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 24' 06,1'' E16° 21' 16,5''	288	2x	
191	6644	Pocinovice	33. Branžovský hvozď	N49° 21' 21,7'' E13° 06' 50,3''	464	4x	
192	6645	Rozpáralka	31 Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 20' 31,0'' E13° 14' 44,5''	362	4x	
193	6646	Čihaň	34. Plánický hřeben	N49° 20' 20,5'' E13° 25' 56,3''	590	4x	
194	6647	Černíč	36. Horažďovická pahorkatina; a – Horažďovicko	N49° 18' 37,0'' E13° 35' 30,7''	465	4x	
195	6648	Svéradice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Horažďovicko	N49° 22' 38,7'' E13° 44' 24,4''	467	4x	
196	6649	Čekanice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	N49° 22' 37,6'' E13° 53' 09,8''	532	4x	
197	6650	Topělec	41. Střední Povltaví	N49° 21' 04,2'' E14° 08' 10,4''	385	2x	
198	6651	Podolsko	41. Střední Povltaví	N49° 21' 22,6'' E14° 17' 34,4''	415	2x	
199	6652	Rataje	42. Votická pahorkatina; b – Táborsko-vlašimská pahorkatina	N49° 20' 39,1'' E14° 25' 14,8''	470	2x	
200	6654	Turovec	39. Třeboňská pánev	N49° 21' 50,8'' E14° 47' 09,2''	403	4x	
201	6655	U Cihelny	67. Českomoravská vrchovina	N49° 21' 07,6'' E14° 55' 31,6''	527	4x	
202	6656	Lidmaňka	67. Českomoravská vrchovina	N49° 23' 21,0'' E15° 03' 08,4''	599	4x	
203	6657	Bělá	67. Českomoravská vrchovina	N49° 18' 45,1'' E15° 15' 41,5''	673	4x	
204	6658	Nový Svět	67. Českomoravská vrchovina	N49° 20' 43,8'' E15° 28' 09,7''	511	4x	
205	6659	Puklice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 21' 46,4'' E15° 39' 05,3''	512	4x	
206	6660	Kamenice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 21' 47,6'' E15° 47' 34,8''	539	4x	
207	6661	Měřín	67. Českomoravská vrchovina	N49° 22' 23,2'' E15° 53' 34,0''	512	4x	
208	6662	Mostišť	67. Českomoravská vrchovina	N49° 22' 29,2'' E16° 01' 01,0''	433	4x	
209	6663	Níhov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 20' 08,7'' E16° 16' 14,9''	444	2x	
210	6664	Střemchoví	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 21' 43,1'' E16° 22' 10,8''	297	4x	
211	6744	Uhlišť	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N49° 16' 40,5'' E13° 05' 02,0''	526	4x	
212	6745	Viteň	34. Plánický hřeben	N49° 17' 06,6'' E13° 16' 57,0''	561	4x	

213	6746	Pích	34. Plánický hřeben	N49° 13' 56,4'' E13° 25' 06,1''	608	4x	⊗
214	6747	Sušice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; c – Sušicko-horažďovické vápence	N49° 15' 14,5'' E13° 33' 22,4''	492	4x	
215	6748	Frymburk	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	N49° 15' 20,1'' E13° 43' 54,4''	489	4x	
216	6749	Jinín	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	N49° 13' 25,8'' E13° 58' 06,5''	451	4x	
217	6750	Hůrky II	38. Budějovická pánev	N49° 15' 49,8'' E14° 09' 21,2''	409	4x	
218	6751	Kukle	38. Budějovická pánev	N49° 15' 06,7'' E14° 14' 21,9''	406	2x	
219	6752	Nezašov	41. Střední Povltaví	N49° 13' 55,0'' E14° 21' 53,5''	377	2x	
220	6754	Přehořov	39. Třeboňská pánev	N49° 14' 45,4'' E14° 45' 24,5''	423	4x	
221	6755	Světce	67. Českomoravská vrchovina	N49° 16' 25,5'' E14° 56' 29,7''	517	4x	
222	6756	Štítné	67. Českomoravská vrchovina	N49° 15' 21,1'' E15° 07' 58,7''	603	4x	
223	6757	Panské Dubenky	67. Českomoravská vrchovina	N49° 13' 29,1'' E15° 15' 46,2''	630	4x	
224	6758	Nová Ves II	67. Českomoravská vrchovina	N49° 16' 45,5'' E15° 21' 15,8''	639	4x	
225	6759	Stonařov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 15' 24,0'' E15° 35' 34,8''	660	4x	
226	6760	Pokojoyovice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 13' 12,2'' E15° 43' 57,1''	519	4x	
227	6761	Budíkovice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 15' 45,4'' E15° 54' 03,8''	476	2x	
228	6762	Jedov	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 13' 05,5'' E16° 09' 15,3''	363	2x+4x	
229	6763	Újezd u Rosic	67. Českomoravská vrchovina	N49° 12' 57,5'' E16° 15' 15,3''	240	2x	
230	6764	Prádelna	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 15' 11,1'' E16° 27' 31,4''	283	2x	
231	6845A	Železná Ruda I	88. Šumava; a – Královský hvozď	N49° 08' 20,0'' E13° 13' 39,2''	769	4x	
232	6845B	Železná Ruda II	88. Šumava; a – Královský hvozď	N49° 08' 09,3'' E13° 14' 09,4''	778	4x	⊗ *
233	6846	Prášily	88. Šumava; b – Šumavské pláně	N49° 06' 04,0'' E13° 25' 21,7''	860	4x	
234	6847	Nezdice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; c – Nezdické vápence	N49° 10' 43,3'' E13° 37' 27,8''	566	4x	
235	6848	Čábuze	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	N49° 06' 41,6'' E13° 42' 22,3''	563	4x	

236	6849	Tvrzice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	N49° 06' 38,4'' E13° 59' 03,1''	514	4x	
237	6850	Pískovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	N49° 10' 05,4'' E14° 04' 24,4''	517	4x	
238	6851	Těšínov	40. Jihočeská pahorkatina; a – Písecko-hlubocký hřeben	N49° 11' 22,2'' E14° 16' 20,1''	428	2x	
239	6852	Litohradice	40. Jihočeská pahorkatina; a – Písecko-hlubocký hřeben	N49° 10' 20,5'' E14° 25' 14,0''	430	2x	
240	6855	Buk	39. Třeboňská pánev	N49° 07' 56,1'' E14° 57' 47,0''	482	4x	
241	6857	Strmilov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 09' 00,1'' E15° 11' 35,0''	547	4x	
242	6858	Řečice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 08' 30,7'' E15° 22' 20,9''	550	4x	
243	6859	Krasovice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 07' 43,2'' E15° 35' 55,8''	558	4x	
244	6860	Bolíkovice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 08' 09,4'' E15° 46' 05,6''	482	2x	
245	6861	Slavice	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 10' 24,0'' E15° 52' 36,0''	484	2x	
246	6862	Hrotovice	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 06' 13,1'' E16° 04' 26,7''	383	2x	
247	6863	Ketkovice	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 09' 13,6'' E16° 16' 16,8''	419	2x	
248	6947	Zhůří	88. Šumava; b – Šumavské pláně	N49° 04' 57,5'' E13° 33' 26,9''	1151	4x	
249	6948	Brantlova pila	88. Šumava; d – Boubínsko - stožecká hornatina	N49° 01' 29,2'' E13° 45' 59,3''	793	4x	
250	6949	Žárovná	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	N49° 03' 07,5'' E13° 54' 33,6''	675	4x	
251	6950	Vítějovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	N49° 02' 13,0'' E14° 03' 05,6''	591	4x	
252	6951	Podeřístě	38. Budějovická pánev	N49° 03' 58,8'' E14° 13' 57,4''	457	4x	
253	6952A	Blanský rybník	38. Budějovická pánev	N49° 04' 18,9'' E14° 24' 56,2''	407	2x	
254	6952B	Hluboká	38. Budějovická pánev	N49° 03' 22,2'' E14° 27' 47,4''	393	4x	
255	6953	Lhotice	40. Jihočeská pahorkatina; c – Lhotický perm	N49° 03' 13,6'' E14° 31' 12,8''	480	4x	
256	6955	Příbraz	39. Třeboňská pánev	N49° 03' 38,1'' E14° 56' 14,2''	453	4x	
257	6956	Sedlo	67. Českomoravská vrchovina	N49° 02' 37,5'' E15° 02' 27,1''	497	4x	
258	6957	Matějovec	67. Českomoravská vrchovina	N49° 03' 44,5'' E15° 15' 48,1''	652	4x	
259	6958	Dolní Bolíkov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 02' 15,7'' E15° 22' 20,7''	505	4x	



260	6959	Chotěbuzice	67. Českomoravská vrchovina	N49° 02' 36,0'' E15° 34' 05,6''	449	4x	
261	6960	Jackov	67. Českomoravská vrchovina	N49° 02' 04,1'' E15° 45' 56,3''	437	4x	
262	6962	Litovany	68. Moravské podhůří Vysočiny	N49° 02' 26,2'' E16° 03' 01,8''	350	2x	
263	7048	Horní Vltavice	88. Šumava; d – Boubínsko - stožecká hornatina	N48° 58' 25,4'' E13° 45' 43,4''	916	4x	
264	7049	Volary	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	N48° 55' 33,7'' E13° 53' 31,2''	786	4x	
265	7050	Prachatice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	N48° 59' 17,4'' E14° 01' 51,1''	642	4x	
266	7051	Cvrčkův mlýn	37. Šumavsko-novohradské podhůří; j – Blanský les	N48° 55' 36,8'' E14° 12' 20,3''	579	4x	
267	7052	Černý Dub	38. Budějovická pánev	N48° 55' 41,6'' E14° 24' 18,0''	436	4x	
268	7053	Střížov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	N48° 54' 39,6'' E14° 31' 32,0''	448	4x	
269	7054	Petrovice	39. Třeboňská pánev	N48° 55' 53,6'' E14° 41' 12,1''	459	4x	
270	7055	Klikov	39. Třeboňská pánev	N48° 54' 18,5'' E14° 54' 22,2''	437	4x	
271	7059	Radotice	68. Moravské podhůří Vysočiny	N48° 59' 42,2'' E15° 35' 02,4''	426	4x	
272	7060	Želetavy	68. Moravské podhůří Vysočiny	N48° 57' 40,5'' E15° 40' 45,5''	365	4x	
273	7062	Rudlice	68. Moravské podhůří Vysočiny	N48° 56' 40,7'' E16° 03' 02,3''	233	2x	
274	7063	Domčice	16. Znojensko-brněnská pahorkatina	N48° 56' 27,4'' E16° 10' 17,6''	232	2x	
275	7148A	České Žleby	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	N48° 53' 14,9'' E13° 47' 19,6''	896	4x	⊗
276	7149	Záhvozdí	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	N48° 49' 51,9'' E13° 57' 20,6''	741	4x	
277	7151	Borová	37. Šumavsko-novohradské podhůří; j – Blanský les	N48° 52' 29,4'' E14° 13' 15,3''	612	4x	
278	7152	Markvartice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	N48° 48' 52,3'' E14° 25' 00,1''	637	4x	
279	7153	Něchov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	N48° 49' 48,6'' E14° 32' 12,4''	538	4x	
280	7154	Brouskův mlýn	39. Třeboňská pánev	N48° 52' 26,9'' E14° 42' 29,8''	452	4x	
281	7155	Lužnice	39. Třeboňská pánev	N48° 48' 34,3'' E14° 56' 02,0''	465	4x	
282	7249	Nová Pec	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	N48° 47' 01,5'' E13° 56' 35,0''	751	4x	

283	7250	Hůrka	37. Šumavsko-novohradské podhůří; i – Chvalšinské Předšumaví	N48° 45' 01,1'' E14° 04' 23,1''	735	4x	
284	7251	Bohdalovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; l – Českokrumlovské Předšumaví	N48° 45' 21,3'' E14° 16' 46,6''	675	4x	*
285	7252	Dolní Pláně	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	N48° 46' 49,5'' E14° 25' 45,0''	644	4x	
286	7253	Třebíčko	89. Novohradské hory	N48° 43' 18,0'' E14° 37' 43,8''	673	4x	
287	7254	Terčino údolí	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	N48° 47' 04,1'' E14° 46' 08,8''	477	4x	
288	7255	Vyšné	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	N48° 47' 16,0'' E14° 52' 53,7''	500	4x	
289	7350	Milná	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	N48° 40' 51,3'' E14° 09' 39,1''	732	4x	
290	7351	Lipno	37. Šumavsko-novohradské podhůří; m – Vyšebrodsko	N48° 37' 57,1'' E14° 14' 30,8''	707	4x	
291	7352	Rychnov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	N48° 40' 02,6'' E14° 28' 49,3''	604	4x	
292	7353	Malonty	89. Novohradské hory	N48° 40' 02,9'' E14° 37' 45,0''	736	4x	
293	7568	Marhecký rybník	1. Záhorská nížina	N48° 24' 34,6'' E17° 01' 20,6''	172	2x	⊗
294	7669	Pezinská Baba	10. Malé Karpaty	N48° 20' 29,8'' E17° 13' 19,2''	297	2x	
295	7868	Železná Studnička	10. Malé Karpaty	N48° 11' 40,5'' E17° 05' 42,3''	267	2x	⊗
296	6945	Zweislerwaldhaus	-	N49° 04' 21,4'' E13° 13' 46,0''	610	4x	
297	7046	Filzwald	-	N48° 55' 01,4'' E13° 24' 17,7''	759	4x	⊗
298	7147	Mauth	-	N48° 53' 13,2'' E13° 34' 40,2''	768	4x	⊗
299	7148B	Vorderfirmiansreut	-	N48° 52' 26,3'' E13° 40' 01,9''	947	4x	
300	7246	Masering	-	N48° 43' 21,3'' E13° 22' 05,3''	657	4x	
301	7448A	Mistlberg	-	N48° 34' 35,7'' E13° 49' 18,2''	634	4x	
302	7448B	Obekappel	-	N48° 32' 54,4'' E13° 45' 59,9''	517	4x	⊗

## 4. CYTOMETRIE

### 4.1. Úvod

Pouze ve dvou studiích byly analyzovány druhy *Cardamine* pomocí průtokové cytometrie za účelem určení velikosti jejich genomu. Johnston *et al.* (2005) analyzoval tři diploidní druhy za tímto účelem, jmenovitě *C. amara*, *C. hirsuta* a *C. impatiens*. Obsah DNA (1C) mezi studovanými druhy byl v rozmezí od 0,212 pg do 0,229 pg (*C. amara* 0,225 pg, *C. hirsuta* 0,229 pg a *C. impatiens* 0,212 pg). Lihová *et al.* (2006) analyzovala jeden hexaploidní druh (*C. asarifolia*), jeden diploidní druh (*C. amara*) a jejich hybrida *C. ×ferrarii*. 2C hodnoty studovaných druhů byly v rozmezí od 2,67 pg pro *C. asarifolia*, 2,01 pg pro *C. ×ferrarii*, do 0,5 pg pro *C. amara*. Výsledky těchto analýz ukázaly, že diploidní druhy *Cardamine* patří k druhům s nejmenší velikostí genomu v rámci krytosemenných rostlin.

### 4.2. Charakteristika metody

Průtoková cytometrie (Flow cytometry, FCM) je moderní metodou používanou v současnosti v širokém spektru biologických oborů. Původně byla vyvinuta pro biomedicínské účely a to zejména pro rychlé počítání a analýzu krevních buněk v 60.–70. letech. Na počátku 80. let se průtoková cytometrie začala využívat i ke studiu rostlin (Doležel 1997).

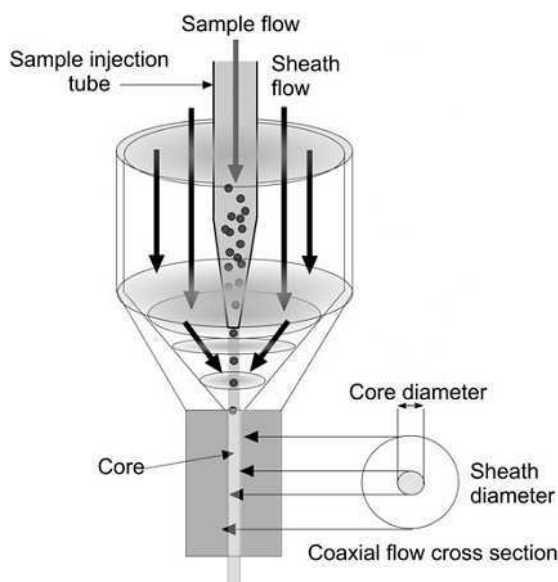
Pozdější nástup cytometrie v botanických oborech byl způsoben problémy s pevnou buněčnou stěnou u rostlinných buněk. Zlomovou byla práce Galbraith *et al.* (1983), který použil radikálně pokrokové řešení. Připravil suspenzi intaktních jader nasekáním malého množství čerstvé rostlinné tkáně ve vhodném izolačním pufru (Doležel & Bartoš 2005). Rozsah uplatnění jejích aplikací je široký, v botanice se používá například ke stanovení velikosti genomu, určení ploidie a reprodukčních způsobů, detekci smíšených vzorků, mixoploidie, endopolyploidie a aneuploidie aj. (Doležel *et al.* 2007).

Při problematické morfologické odlišitelnosti podruhů *C. amara* byla tato metoda zvolena jako nejspolehlivější kritérium rozlišení diploidních a polyploidních jedinců.

Průtoková cytometrie využívá optických vlastností (v našem případě fluorescence) izolovaných buněk a jejich částí. Průtokový cytometr může být rozdělen na tři základní části

– průtokovou, optickou a elektronickou část. Základem průtokové části je průtoková komůrka, kterou prochází proud jader a je ozařován laserovým paprskem.

Optická část je ve většině moderních cytometrech zastoupena laserem jako zdrojem excitačního světla, zatímco původnější systémy využívají vysokotlaké rtuťové výbojky (Doležel *et al.* 2007). Dále následuje optická soustava a soubor fotonásobičů a zesilovačů. Izolovaná fluorescenčně obarvená jádra jsou rozptýlena v kapalině (nejčastěji destilované vodě nebo slabém roztoku solí) a unášena rychlým prouděním kapaliny skrz tenkou kapiláru do optické komůrky. Je zde využíváno tzv. hydrodynamické fokusace, kde kapalina je přiváděna pod větším tlakem než vlastní suspenze částic, které jsou tudíž udržovány jen v centrální části proudu. V komůrce (obr. 9) jedno jádro po druhém prochází přes svazek paprsků excitačního světla laseru o určité vlnové délce (Suda 2004).

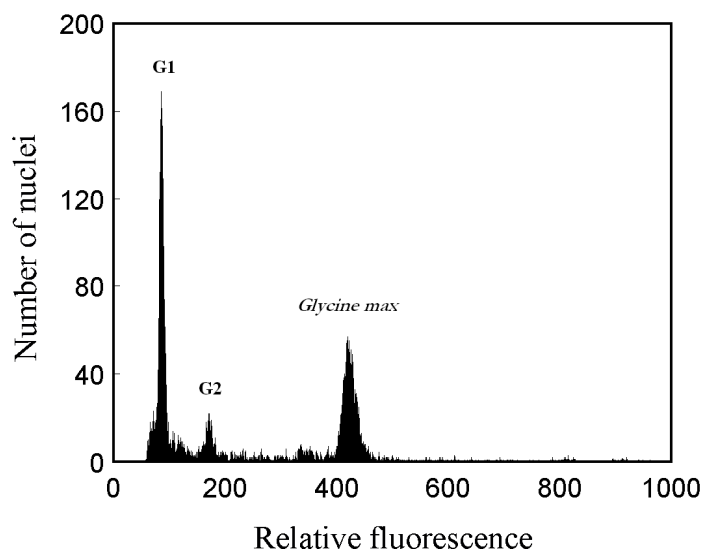


Obr. 9: Schéma průtokové komůrky (Doležel 2007).

Emitované světlo ozářených jader je následně vedeno přes soubor filtrů a zachyceno fotodetektorem, který převede optický signál na elektrický impuls. Po zesílení signálu a převedení impulsu z analogové do digitální podoby dochází ke zpracování dat počítačem do formy histogramu (Suda 2004).

Výsledkem analýz jsou histogramy (obr. 10) zobrazující relativní intenzitu fluorescence izolovaných jader. Na ose x zachycují relativní intenzitu fluorescence jednotlivých jader a na ose y jejich počet. Z histogramů můžeme obvykle odečíst dva píky studované rostliny: první pík odpovídá G1 fázi buněčného cyklu, druhý menší pík představuje G2 fázi. Při endopolyploidizaci pletiv, která je u *Cardamine* častá můžeme na

histogramu vidět i další stále menší píky. Z pozice těchto píků společně s píkem interního standardu můžeme tedy určit ploidii rostliny.



Obr. č. 10: Příklad výstupu z průtokového cytometru – histogramu, který znázorňuje píky *Cardamine amara* G1 a G2, a pík standartu *Glycine max*. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.

Jedním z parametrů cytometrických analýz je variační koeficient (CV), který charakterizuje přesnost analýzy a je vypočítán jako podíl směrodatné odchylky a průměrné pozice píku. Je udáván v procentech a obvykle tolerován v rozmezí od 1 do 5 %. U kritických analýz (např. analýza velikostí genomu) jsou považovány hodnoty do 3 % za přesné. U druhů s vysokým obsahem sekundárních metabolitů můžeme akceptovat analýzy s hodnotami koeficientu kolem 5 %. Toleranci je třeba také zachovat u taxonů s malým množstvím DNA (např. u *Arabidopsis thaliana* je hranice přesnosti kolem 7 %) (Suda 2005).

Kvalitu analýz dále ovlivňuje i typ fluorescenčního barviva, které se různě vážou na dvoušroubovici DNA. V našem případě bylo použito barvivo propidium jodid, které je excitováno v modrozelené oblasti spektra a emituje červené záření. Propidium jodid se neselektivně vmezeřuje do DNA dvoušroubovice, díky čemuž dovoluje stanovit celkové množství nukleové kyseliny. Jelikož se barvivo váže také k dvouřetězcové RNA, je nutné do barvicího roztoku přidávat dostatečné množství ribonukleázy (Suda 2005).

#### 4.2.1. Výhody a nevýhody metody

Průtoková cytometrie je vhodnou metodou pro rychlé analyzování velkého množství materiálu, zanalyzováno může být i více než 100 částic za sekundu. Mezi její další výhody patří nenáročnost přípravy vzorku a nedestruktivnost metody. Pro analýzu stačí velikost pletiva kolem  $0,5 \text{ cm}^2$ , což umožňuje rostlinu analyzovat několikrát a je možné studovat i vzácné a ohrožené druhy. Dále metoda nevyžaduje mitoticky aktivní buňky a je možné k analýze použít širokou škálu pletiv (Doležel *et al.* 2007).

K nevýhodám patří ve většině případů potřeba čerstvého materiálu. Povadlý rostlinný materiál mívá za následek horší kvalitu histogramů, což se v našem případě korunních lístků potvrdilo. Dalším negativním faktorem je vysoký obsah sekundárních metabolitů, které omezují vazbu fluorescenčního barviva na dvoušroubovici DNA, a kvůli kterému se kvalita analýz též rapidně snižuje. Tímto jsou známe především čeledi jako *Geraniaceae*, *Rosaceae* (Suda 2004).

#### 4.3. Postup

Analýzy byly provedeny v cytometrické laboratoři PřF UK na cytometru Partec CyFlow se zeleným laserem jako excitačním zdrojem. Cytometrické analýzy druhu *Cardamine amara* byly značně problematické z důvodu vysoké endoploidie pletiv a vysokého obsahu sekundárních metabolitů. U rostlin čeledi *Brassicaceae* je endopolyploidizace častým jevem (Suda 2004). Použití obvyklých čepelí listů nebylo následkem vysoké endopolyploidizace možné. Vzhledem k několika stejně vysokým píkům nebylo možné odhalit případné směsné vzorky a histogramy byly pro odlišení jednotlivých ploidních úrovní nepoužitelné. Tato možnost byla testována na souboru různých pletiv (čepel listu, řapíky, kališní a korunní lístky). Pro analýzy byly použity korunní lístky, které se ukázaly být nejvhodnější. Jejich použitím se nejen rapidně snížilo množství a výška endopolyploidních píků, ale podařilo se docílit kvalitnějších analýz (tj. analýz bez výrazného pozadí). Jako vnitřní standard byly použity listy sóji *Glycine max* 'Polanka' ( $2C = 2,50 \text{ pg}$ ; Doležel *et al.* 1994) cca 5krát větší velikost genomu než diploidní jedinci *Cardamine amara* subsp. *amara* (Lihová *et al.* 2007).

#### 4.3.1. Stanovení DNA ploidie

Buněčná jádra byla izolována dle standardního postupu používaného v cytometrické laboratoři PřF UK. Z každé rostliny byly odebrány 2 korunní lísky a rozsekány ostrou žiletkou spolu s interním standardem (*Glycine max* 'Polanka') v 0,5 ml čerstvého vychlazeného pufru Otto I (0,1 M monohydrát kyseliny citrónové, 0,5 % Tween 20; Otto 1990). Následně byl vzorek přefiltrován přes 42 µm nylonový filtr do polyetylenových zkumavek. Před analýzou byl vzorek obarven roztokem pufru Otto II (0,4 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O; Otto 1990) s fluorescenčním barvivem propidium jodidu (o koncentraci 50 µg/ml; Sigma), Rnázou IIA (50 µg/ml; Sigma) a β-merkapt ethanolom (2 µg/ml; Sigma). Tento roztok pufru se nechal 3–5 minut působit při pokojové teplotě. Poté byl změřen na cytometru Partec CyFlow se zeleným laserem jako zdrojem excitace fluorochromů. Rostliny ze stejné lokality byly analyzovány ve směsných vzorcích (2–6 jedinců najednou). Pokud se ukázala být na lokalitě smíšená populace analyzovaly se jednotlivé rostliny. Pro získání spolehlivých analýz se zanalyzovalo 3 tisíce jader.

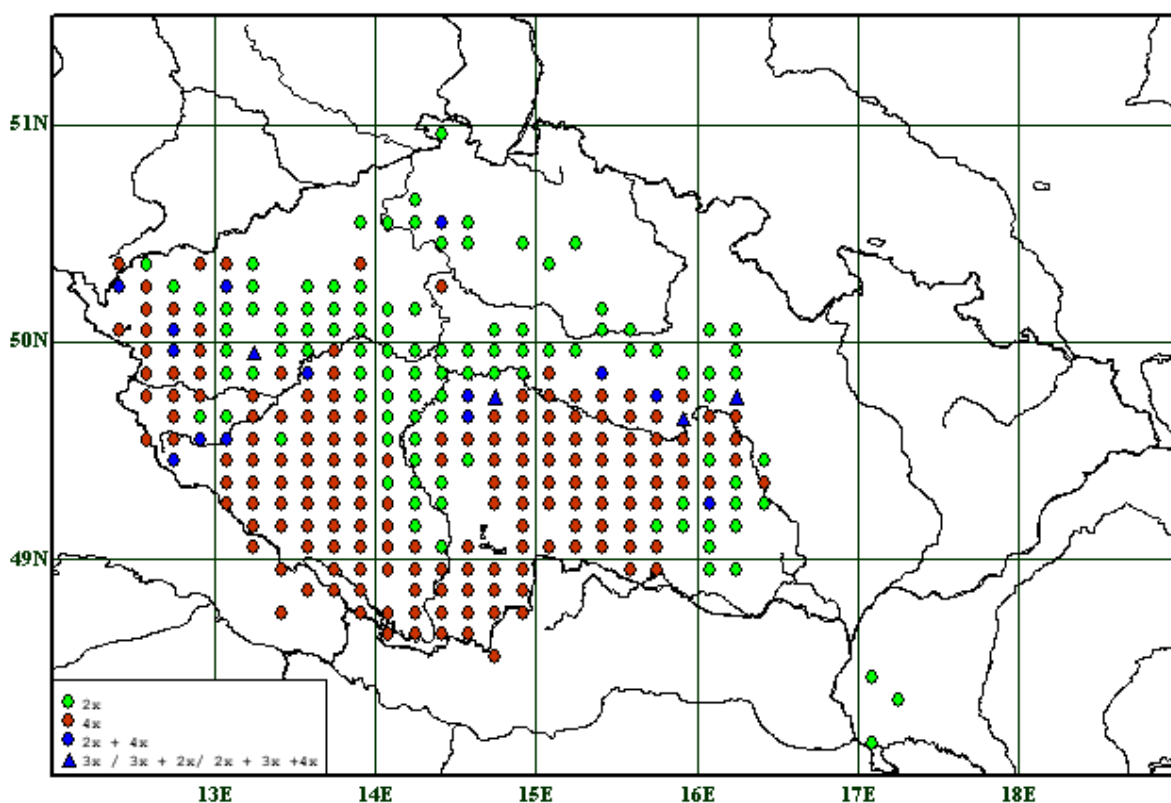
#### 4.3.2. Stanovení absolutní velikosti genomu

Ke stanovení absolutní velikosti genomu v pikogramech (pg) byla použita stejná pletiva a byl zde použit stejný postup jako při měření DNA ploidii. Jednotlivé rostliny byly rozsekány spolu s interním standardem (*Glycine max* 'Polanka') v 0,5 ml čerstvého pufru Otto I (0,1 M monohydrát kyseliny citrónové, 0,5 % Tween 20; Otto 1990). Před analýzou byl vzorek obarven roztokem pufru Otto II (0,4 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O; Otto 1990) s fluorescenčním barvivem propidium jodidu (o koncentraci 50 µg/ml), Rnázou IIA (50 µg/ml; Sigma) a β-merkapt ethanolom (2 µg/ml; Sigma). Samotná analýza byla provedena na cytometru Partec CyFlow s laserem jako zdrojem excitace fluorochromů. Pro zajištění věrohodnosti byla všechna měření 3 krát opakována a byla provedena ve třech různých dnech. Pro získání spolehlivých analýz se zanalyzovalo 5 tisíc jader. Analýzy, které vykazovaly rozdíl větší než 2 % od průměrné velikosti genomu jedince byly vyřazeny a měření bylo opakováno v jiný den.

## 4.5. Výsledky

V roce 2007 a 2008 byl nasbírán rostlinný materiál z 299 lokalit, z čehož bylo 292 lokalit na území České republiky, 2 lokality z Rakouska a 5 lokalit z Německa (obr. 11). Celkem bylo analyzováno 3266 rostlin. Byly zaznamenány především tetraploidní a diploidní cytotypy. Zcela poprvé byl zjištěn triploidní cytotyp ( $2n = 3x = 24$ ) u druhu *Cardamine amara* v ČR.

V rámci cytometrických analýz bylo ve sledovaném území zaznamenáno 105 lokalit s diploidními rostlinami, 176 lokalit s tetraploidy, 1 lokalita s triploidy a 17 lokalit s rostlinami smíšených ploidních úrovní. Pro standardizaci metody bylo několik jedinců od každé ploidie podrobena karyologické analýze (viz kapitola karyologie). Výsledky změřených analýz jednotlivých ploidních úrovní shrnuje tabulka 4. Podrobná tabulka všech měření je uvedena v příloze.



Obr. 11: Síťová mapa výskytu diploidních, triploidních, tetraploidních a smíšených populací *Cardamine amara* v České republice na základě vlastních dat.



Tab. 4: DNA plodní úroveň zjištěná u druhu *Cardamine amara*. Intenzita fluorescence izolovaných jader z pletiv korunních lístků byla vztažena ke standardu *Glycine max* (2C = 2,50 pg). S. D. = směrodatná odchylka

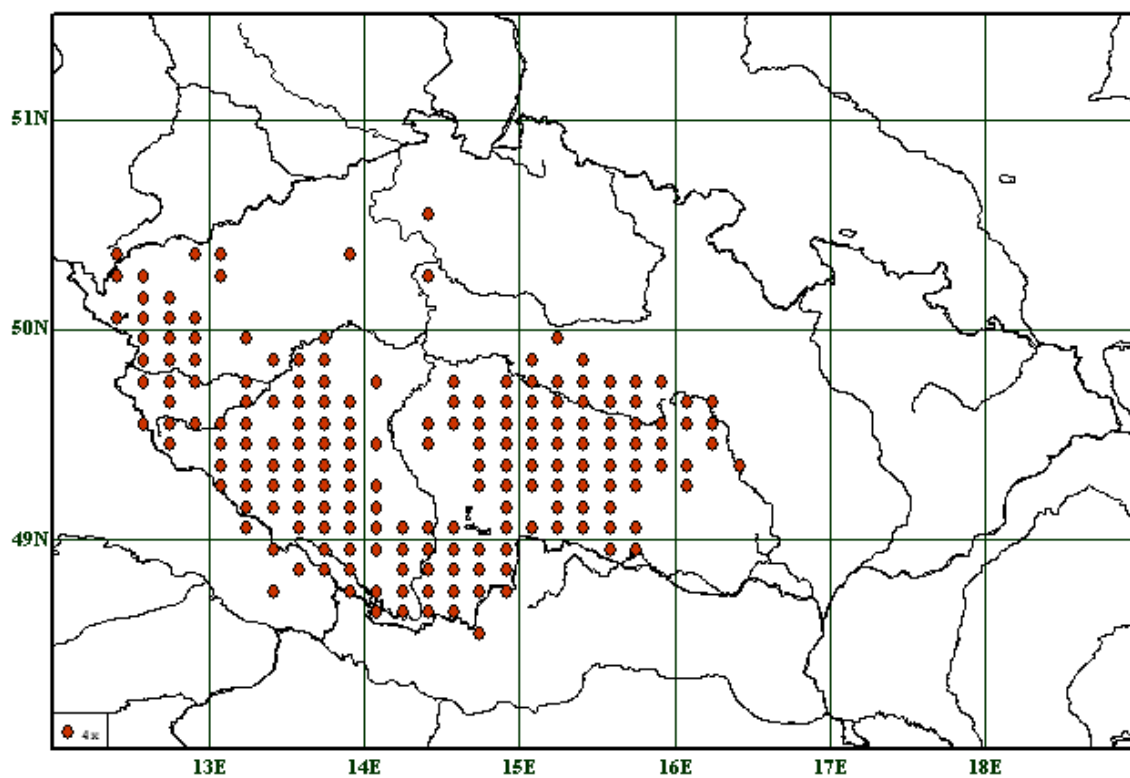
DNA ploidní úroveň	Počet analyzovaných jedinců	CV vzorku (rozsah)	Poměr ke standartu (průměr)	S.D.
2x	1263	1,07 - 4,99	0,184	0,005
3x	83	1,99 - 4,82	0,288	0,005
4x	1920	1,74 - 4,99	0,393	0,013

Absolutní velikost genomu byla měřena u tří rostlin z různých populací pro diploidní a tetraploidní cytotyp, u pěti triploidních rostlin z jedné populace. Naměřené velikosti genomu (hodnoty 2C a 1Cx) jsou uvedené v tabulce 5. Tabulka všech změřených velikostí genomu jedinců je uvedena v příloze.

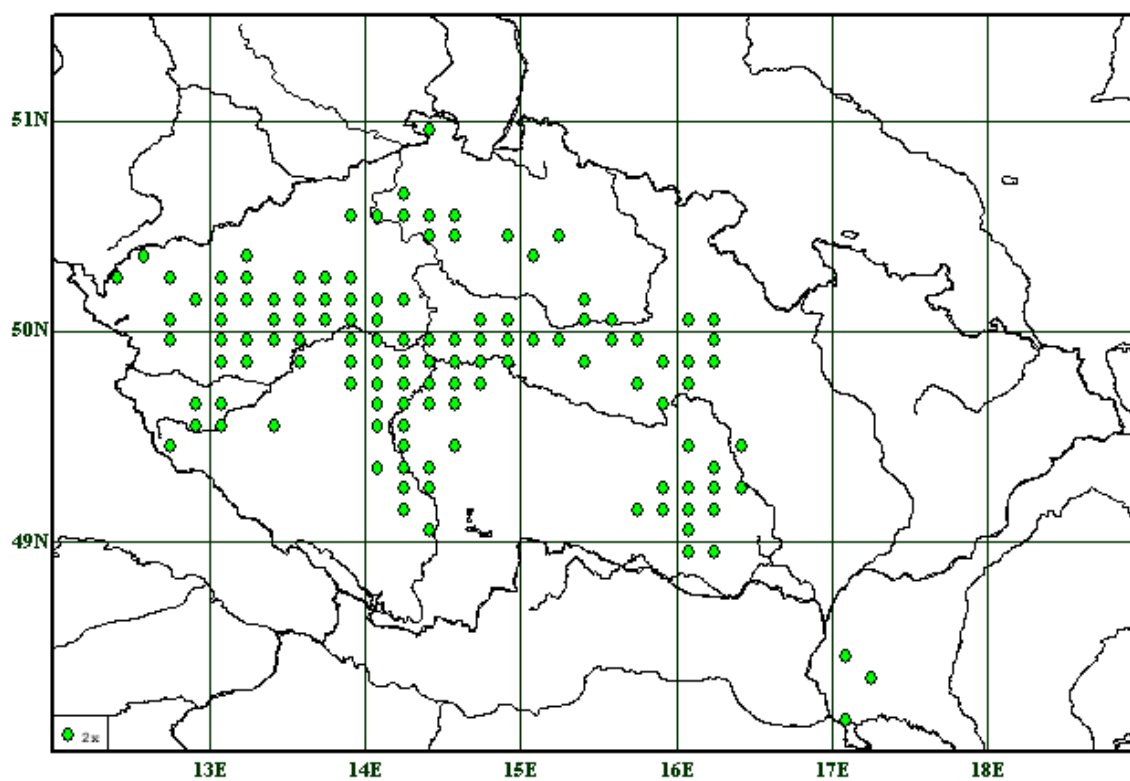
Tab. 5: Absolutní velikosti genomu v pikogramech (pg) pro jednotlivé DNA ploidní úrovně *Cardamine amara*. 2C = obsah DNA somatických buněk, 1Cx = obsah DNA haploidního genomu (Greilhuber *et al.* 2005). S. D. = směrodatná odchylka.

DNA ploidní úroveň	Průměrné 2C (pg)	S.D. (z 2C)	Průměrné 1Cx	S.D. (z 1Cx)
2x	0,472	0,026	0,236	0,013
3x	0,713	0,005	0,238	0,002
4x	0,990	0,024	0,248	0,006

Z celkového množství 299 analyzovaných populací bylo 282 populací cytotypově uniformních, dále v textu označovaných jako „čisté populace“ a 17 populací smíšených. Tetraploidní cytotyp byl nejčastějším cytotypem a vyskytl se v 176 čistých populacích (obr. 12). Diploidní cytotyp byl zastoupen 105 čistými populacemi (obr. 13) a triploidní cytotyp byl nalezen v jediné čisté populaci na lokalitě 6263 Třemošná. Ze 17 cytotypově smíšených populací se nejčastěji společně vyskytovali diploidní a tetraploidní jedinci, kteří byli nalezeni na 14 smíšených populacích. Triploidní jedinci se vyskytovali ve třech smíšených populacích. Na dvou lokalitách byli triploidi společně s diploidními jedinci a na jedné lokalitě se vyskytovali společně s jedinci diploidního i tetraploidního cytotypu.

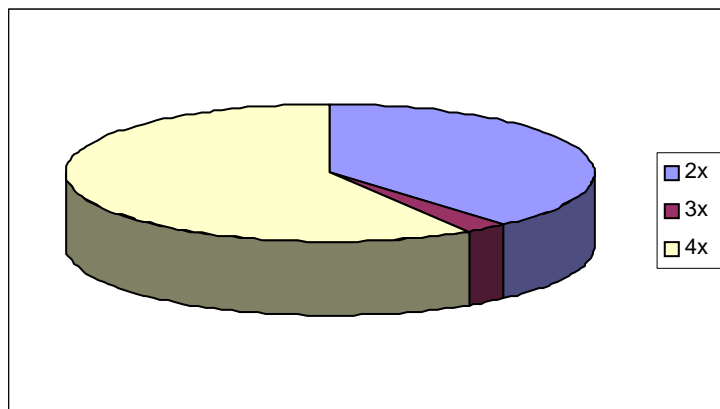


Obr. 12: Síťová mapa výskytu *Cardamine amara* subsp. *austriaca* v České republice na základě vlastních dat.



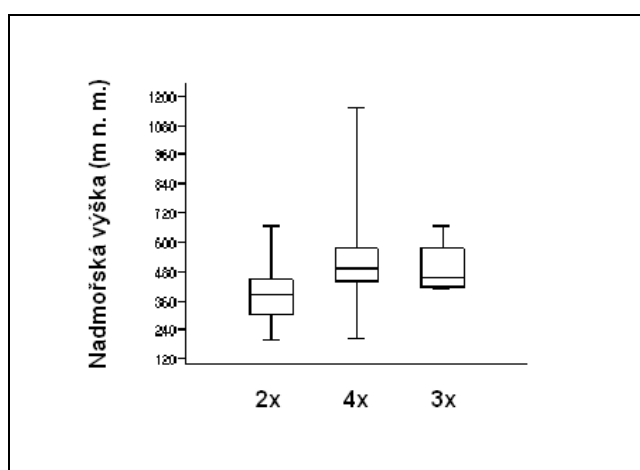
Obr. 13: Síťová mapa výskytu *Cardamine amara* subsp. *amara* v České republice na základě vlastních dat.

Z celkového počtu 3266 změřených rostlin byl nejčastější tetraploidní cytotyp zastoupen 1920 jedinci. Diploidních rostlin bylo změřeno 1263 a triploidních rostlin 83 (tab. 4, obr. 14).

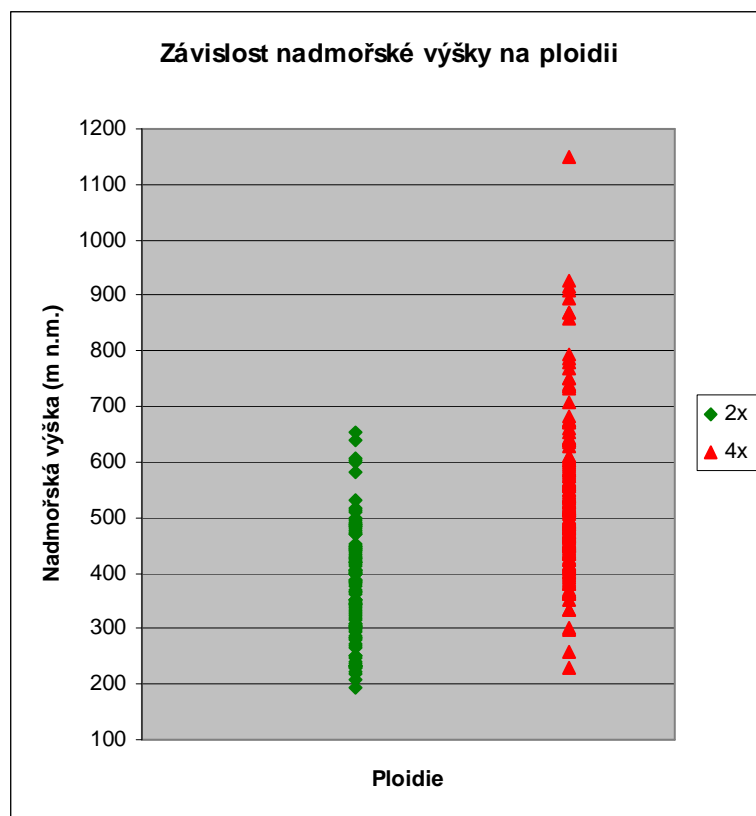


Obr. 14: Výsečový graf znázorňující poměr zastoupení ploidí jednotlivých rostlin v analyzovaném materiálu. Celkový počet změřených rostlin: 3266; počet diploidních rostlin: 1263 (38,7%); počet triploidních rostlin: 83 (2,5%); počet tetraploidních rostlin: 1920 (58,8%).

Je známo, že distribuce *Cardamine amara* subsp. *amara* a *austriaca* je ovlivněna nadmořskou výškou. Diploidní cytotyp se vyskytuje ve středních a nižších nadmořských výškách, zatímco tetraploid pokrývá širší výškové rozpětí, od nižších poloh až po vyšší nadmořské výšky (Marhold & Valachovič 1998, Marhold 1999b, Marhold *et al.* 2002a). Tato závislost se prokázala i na území ČR, kde se vyskytují oba cytotypy zároveň, jak můžeme vidět na obrázcích 15 a 16.

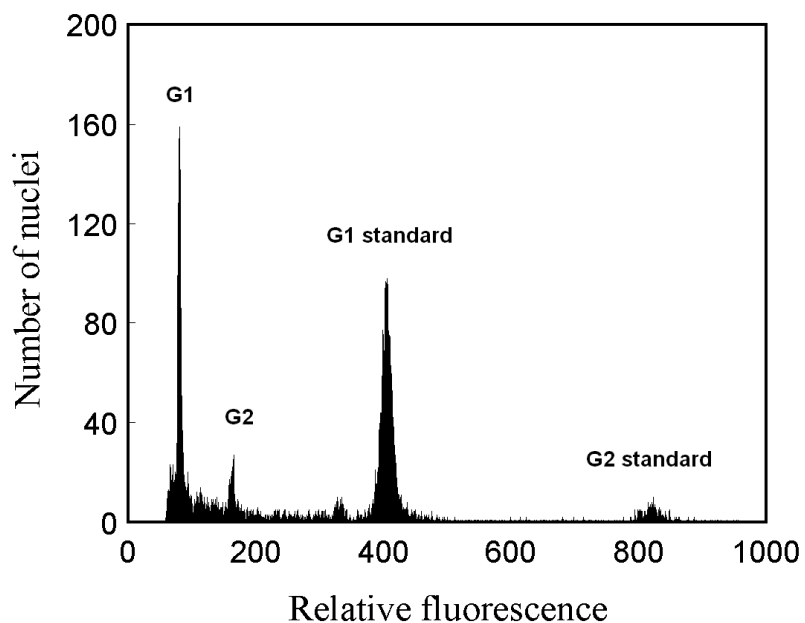


Obr. 15: Krabicový digram distribuce plodných úrovní dle nadmořské výšky. Krabicové diagramy jednotlivých ploidí znázorňují maximum (horní „tykadlo“), minimum (dolní „tykadlo“) a medián (předělová úsečka v samotné krabici) nadmořské výšky.

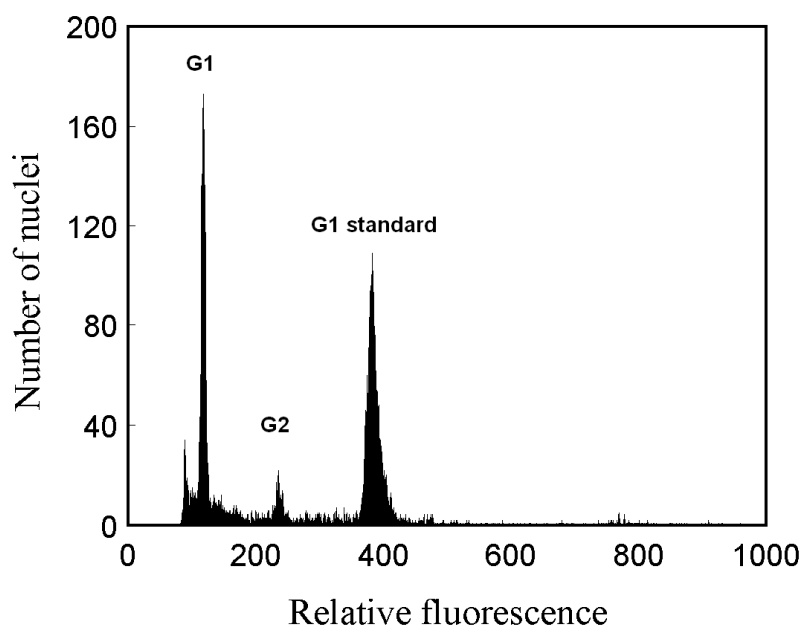


Obr. 16: Graf distribuce diploidů a tetraploidů podle nadmořské výšky. Z grafu je patrné že v oblasti ČR, kde se vyskytuje zároveň diploidní i tetraploidní cytotyp, má tetraploidní cytotyp širší ekologickou amplitudu.

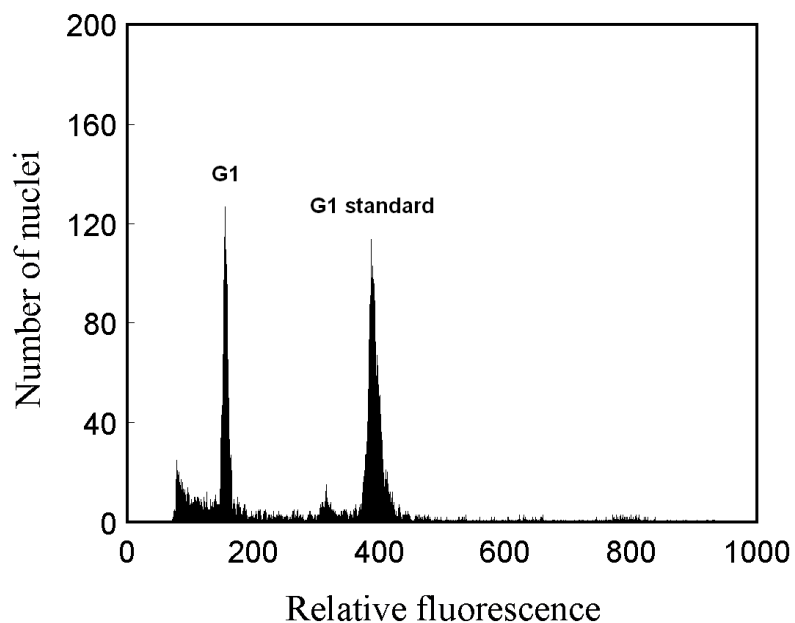
Obrázky 17–22 ukazují výsledky analýz u jednotlivých DNA ploidních úrovní. Na obr. 20 jsou presentovány všechny tři naměřené ploidní úrovně v jedné analýze. Tabulka všech změřených ploidí jedinců je uvedena v příloze. Veškeré analýzy jsou k dispozici na přiloženém CD.



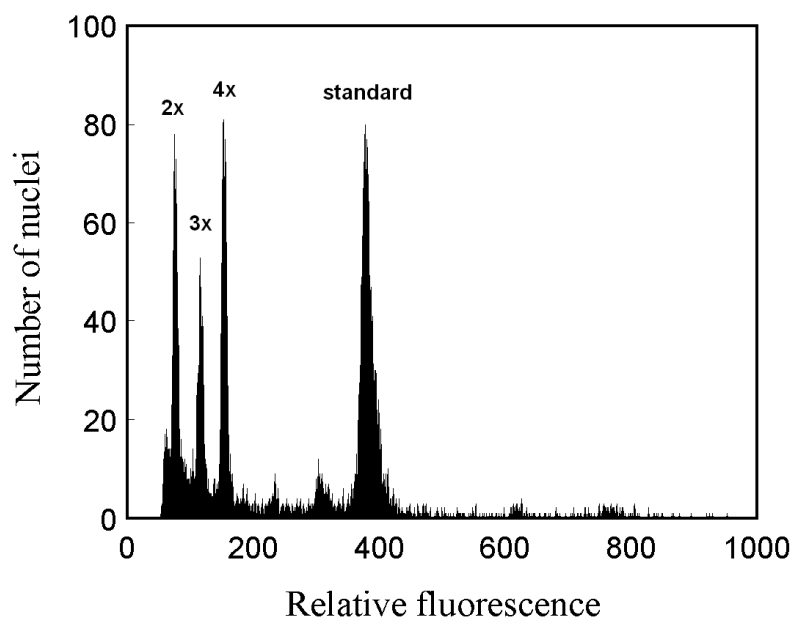
Obr. 17: Výstup z průtokového cytometru diploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *amara* z lokality 6045, poměr píku vzorku a standardu je 5,016, CV vzorku: 2,82, CV *Glycine max*: 2,05. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.



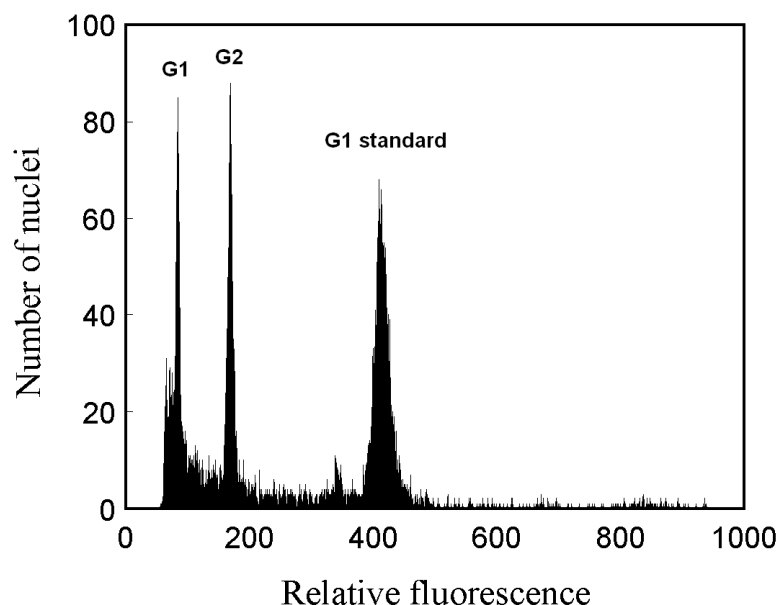
Obr. 18: Výstup z průtokového cytometru triploidní rostliny *Cardamine amara* z lokality 6263, poměr píku vzorku a standardu je 3,251, CV vzorku: 2,61, CV *Glycine max*: 2,26. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.



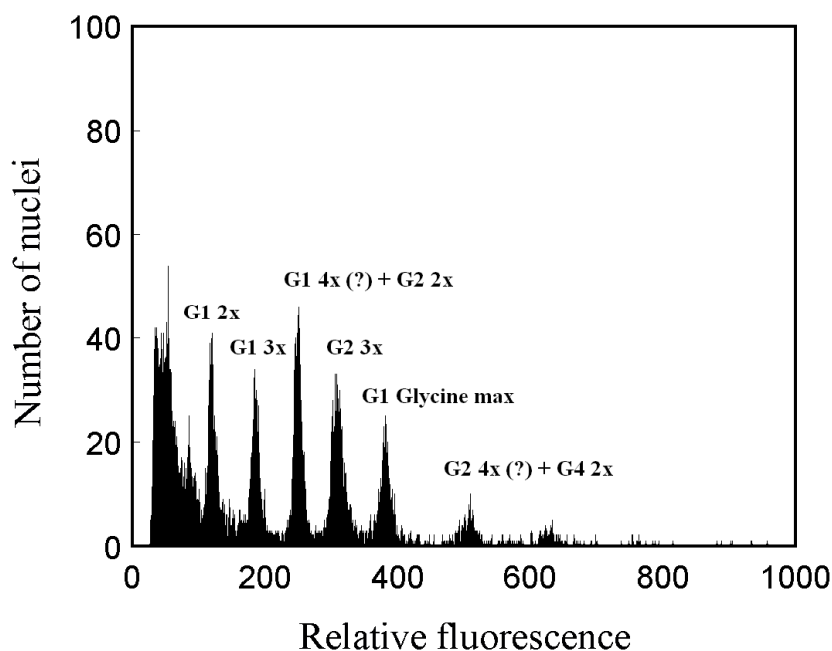
Obr. 19: Výstup z průtokového cytometru tetraploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *austriaca* z lokality 6457, poměr píku vzorku a standardu je 2,505, CV vzorku: 2,58, CV *Glycine max*: 2,22. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.



Obr. 20: Výstup z průtokového simultánní analýzy tří plodných úrovní druhu *Cardamine amara* a standardu *Glycine max* (2x z lokality 6059, 3x z lokality 6253, 4x z lokality 5649) CV vzorku 2x: 4,63; CV vzorku 3x: 3,64; CV vzorku 4x: 2,46, CV *Glycine max*: 2,39. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.



Obr. 21: Výstup z průtokového cytometru diploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *amara* z lokality 5641, poměr píku vzorku a standardu je 5,015, CV vzorku: 3,21, CV *Glycine max*: 2,87. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence. Analýza pletiva čepele listu s výsledkem vysokého podílu endopolyploidních jader.



Obr. 22: Výstup z průtokového cytometru smíšeného vzorku *Cardamine amara* z lokality 6045. Analýza byla provedena z pletiva listů a je ukázkou vysoké endoploidizace v rostlinných pletivech *Cardamine amara*. Kvůli vysoké endoploidizaci nebylo možné analýzy použít. Na histogramu můžeme vidět píky G1 a G2 diploida a triploida. Dále je možné, že se ve smíšeném vzorku vyskytuje i tetraploid, což ale na základě této analýzy není možné s jistotou říci. Standardem byla *Glycine max*. Na kolmé ose počet jader a na vodorovné ose je uvedená relativní fluorescence.

#### 4.5. Podrobné studium smíšených populací

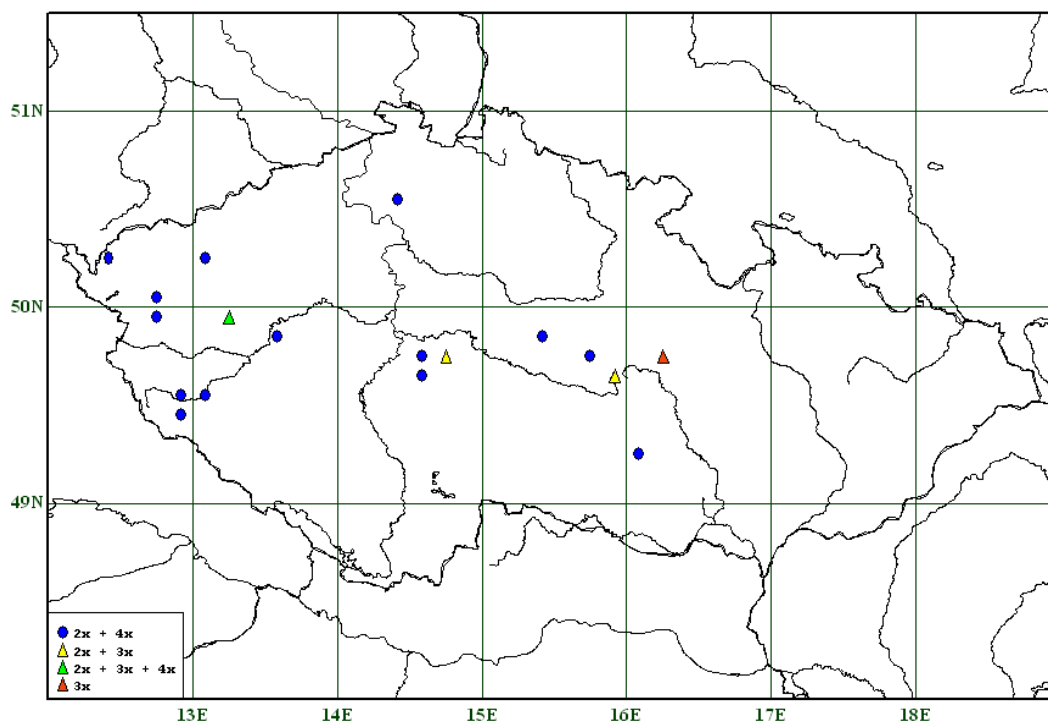
Díky rychlému stanovení ploidie průtokovou cytometrií bylo možné provést podrobné studium několika smíšených populací. V průběhu mapování výskytu *Cardamine amara* bylo nalezeno celkem 17 smíšených populací (tab. 6, obr. 23). Ze smíšených populací nalezených v roce 2007 bylo vybráno 5 populací, na kterých byla v roce 2008 provedeno podrobné studium.

Tab. č. 6: Seznam lokalit *Cardamine amara* s výskytem dvou a více cytotypů.

Číslo lokality	Název lokality	Fytogeografický okres	GPS souřadnice (WGS-84)	Nadmořská výška (m.n.m.)	DNA ploidní stupeň	Počet 2x/3x nebo 4x
6254	Hlíňánky	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	N 49° 44' 32,8'' E 14° 43' 20,3''	405	2x+3x	1/9
6361	Cikháj	91. Žďárské vrchy	N 49° 39' 28,9'' E 15° 58' 16,4''	668	2x+3x	3/7
6045	Lipí	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N 49° 58' 38,1'' E 13° 14' 39,3''	436	2x+3x+4x	3/5/2
5452	Zakšín	51. Polomené hory	N 50° 31' 33,1'' E 14° 29' 36,2''	262	2x+4x	9/1
5740	Smrčina	22. Halštrovská vrchovina	N 50° 14' 03,0'' E 12° 22' 18,0''	505	2x+4x	5/5
5744	Velichov	29. Doupovské vrchy	N 50° 17' 11,6'' E 13° 00' 00,6''	385	2x+4x	3/7
5942	Starý Dvůr	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	N 50° 05' 00,7'' E 12° 49' 15,0''	518	2x+4x	9/1
6042	Pístov	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	N 49° 54' 55,3'' E 12° 45' 28,0''	511	2x+4x	2/8
6147	Kamenec	32. Křivoklátsko	N 49° 52' 56,2'' E 13° 36' 44,8''	360	2x+4x	9/1
6158	Kamenné mosty	65. Kutnohorská pahorkatina	N 49° 51' 45,6'' E 15° 29' 43,0''	210	2x+4x	4/6
6253	Borovka	41. Střední Povltaví	N 49° 46' 08,7'' E 14° 31' 38,5''	379	2x+4x	9/1
6260	Jeníkovec	65. Kutnohorská pahorkatina	N 49° 46' 02,6'' E 15° 41' 34,2''	420	2x+4x	6/4



6353	Vojtkov	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	N 49° 38' 57,5'' E 14° 31' 29,7''	432	2x+4x	2/8
6443	Srby	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N 49° 32' 11,9'' E 12° 52' 12,7''	391	2x+4x	3/7
6444	Vytůň	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	N 49° 33' 22,5'' E 13° 06' 06,4''	388	2x+4x	1/9
6543	Nový Hamr	27. Tachovská brázda	N 49° 26' 01,1'' E 12° 49' 48,7''	444	2x+4x	1/9
6762	Jedov	68. Moravské podhůří Vysočiny	N 49° 13' 05,5'' E 16° 09' 15,3''	363	2x+4x	8/2



Obr. 23: Síťová mapa cytotypově smíšených populací *Cardamine amara* v ČR nalezených v rámci této studie.

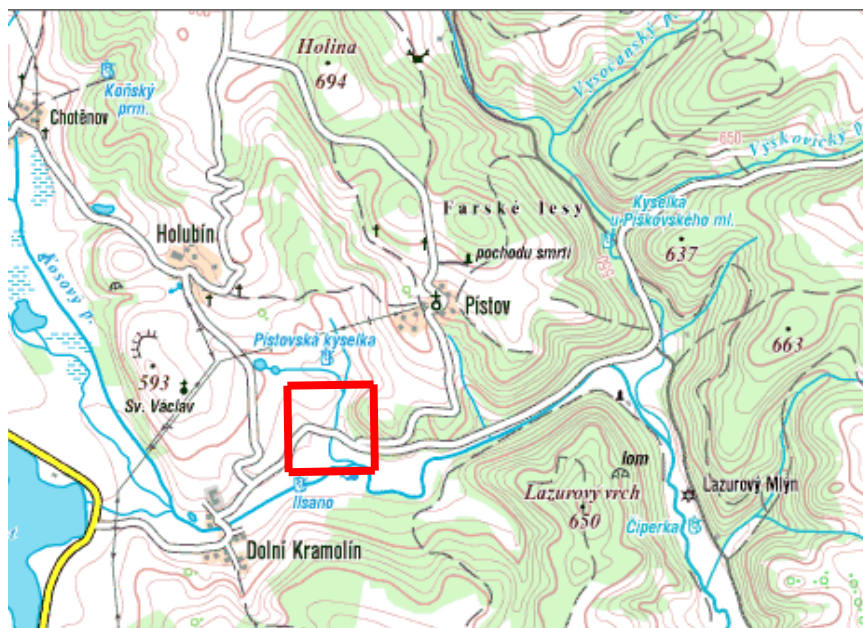
Prostorová uspořádání jednotlivých lokalit byla pro každou lokalitu odlišná, což bylo dané různými podmínkami na lokalitách. Převážně se jednalo populace rozprostřené podél linií potoků. Pouze u dvou lokalit (6042 a 6254) byly rostliny částečně rozšířené po plošného seskupení. Prostorové rozmístění ploidii se statisticky nevyhodnocovalo, jelikož šlo převážně o liniové porosty.

**Lokalita 6042 Pístov**

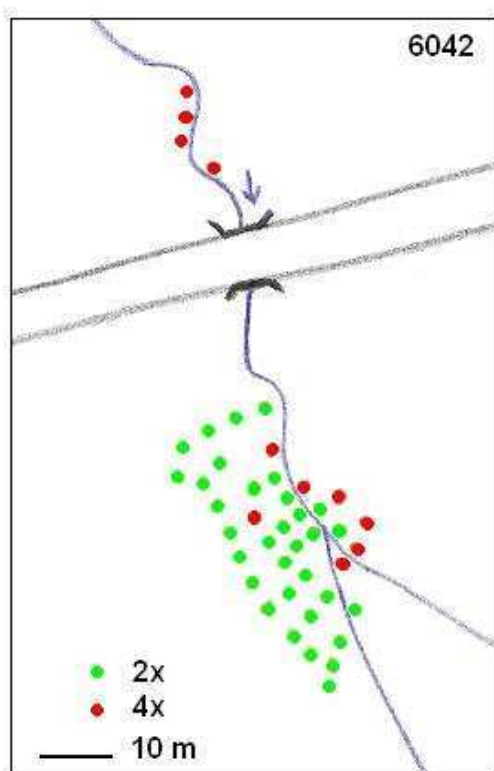
Lokalita se nachází ve Svojšínské pahorkatině mezi obcemi Dolní Kramolín a Pístov v nadmořské výšce cca 511 m. Populace se nalézají podél toku potoka a jeho těsném okolí (obr. 24, 25). V roce 2007 bylo na lokalitě odebráno 10 rostlin, z nichž byly dvě rostliny diploidní a osm rostlin tetraploidních. V následujícím roce byla na lokalitě provedena podrobná studie, bylo odebráno 44 rostlin. Rostliny byly sbírány ve vzdálenosti 3 metrů. Z celkového počtu bylo 11 tetraploidních a 33 diploidních jedinců. Na prostorovém uspořádání cytotypů (obr. 26) na lokalitě je patrné, že zde dochází jen k menšímu překryvu cytotypů a je zde tendence obou cytotypů vytvářet shluky. Tetraploidní rostliny až na jednoho jedince tvoří shluky na okraji shluku diploidních rostlin.



Obr. 24: Fotografie lokality 6042.



Obr. 25: Mapa lokality 6042 ([www.supermapy.atlas.cz](http://www.supermapy.atlas.cz)).



Obr. 26: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6042.

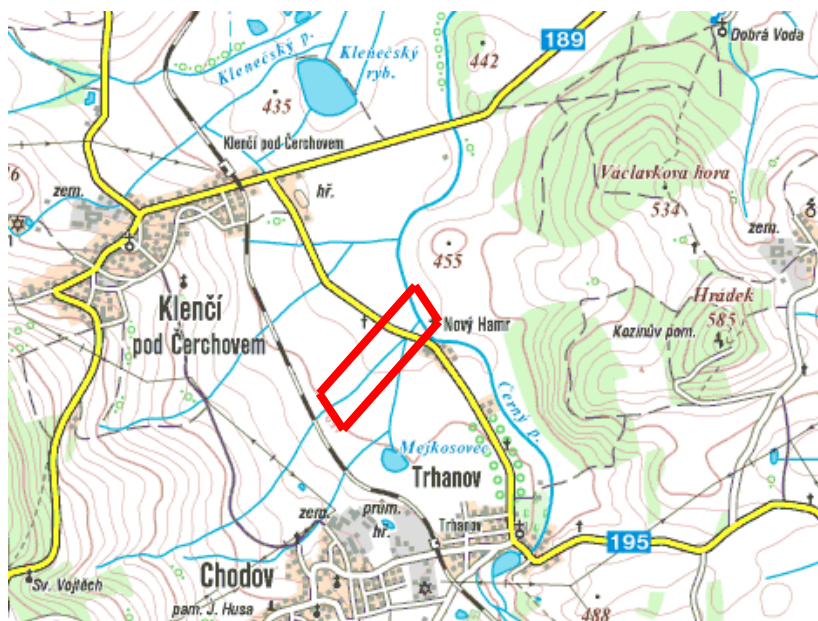


**Lokalita 6543 Nový Hamr**

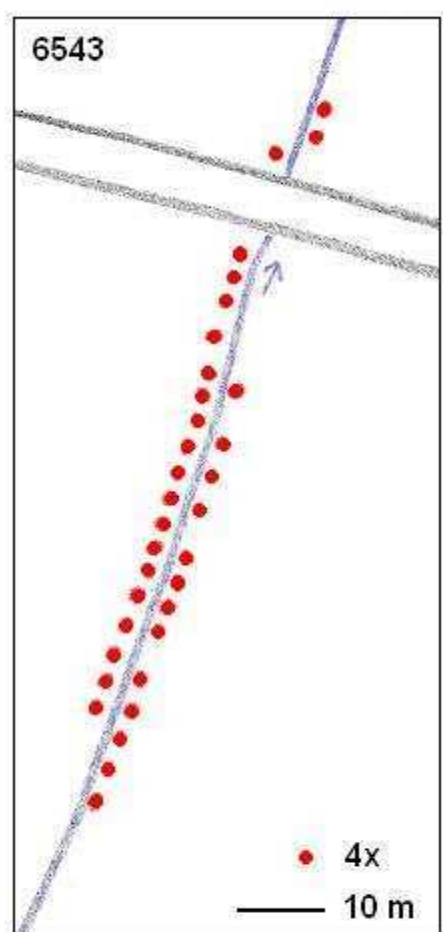
Lokalita se nachází v Tachovské brázdě v nadmořské výšce 444 metrů. Jedná se o populaci vyskytující se podél potoka u silnice č. 195 severozápadně od obce Nový Hamr (obr. 27, 28). V roce 2007 bylo při sběru deseti rostlin zaznamenán jeden diploid a devět tetraploidů. Při podrobné studii této lokality bylo odebráno 34 rostlin, za dodržení minimální tří metrové vzdálenosti při sběru jedinců. V roce 2008 byly nalezeny pouze tetraploidní rostliny (obr. 29). Diploidní cytotyp, který byl při předešlém sběru zastoupen pouze jednou rostlinou, mohl být vynechán kvůli třímetrové vzdálenosti sběru jednotlivých rostlin. Jeho výskyt na této lokalitě je zřejmě velmi omezený.



Obr. 27: Fotografie lokality 6543.



Obr. 28: Mapa lokality 6543 ([www.supermapy.atlas.cz](http://www.supermapy.atlas.cz)).

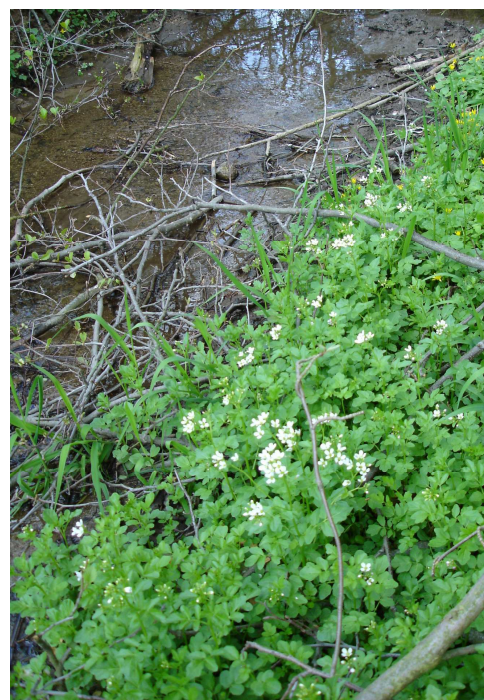


Obr. 29: Prostorové uspořádání cytotypu na lokalitě 6543

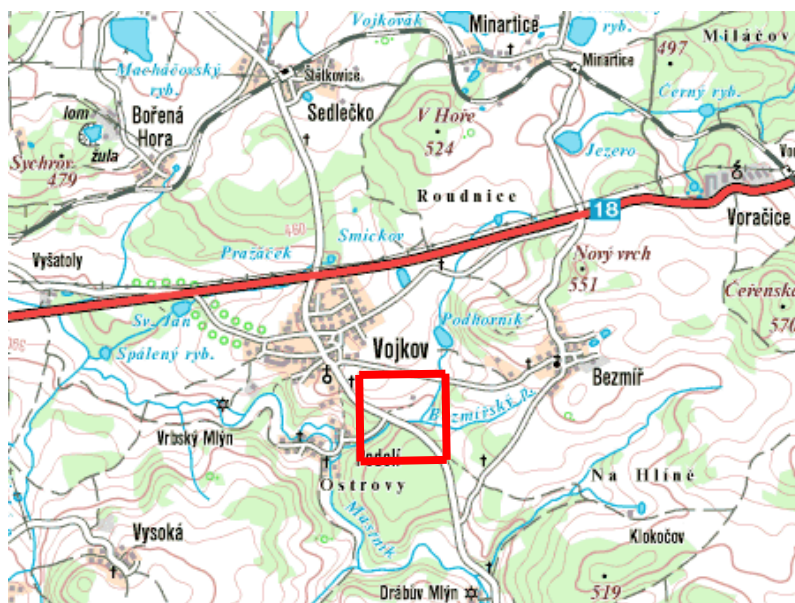


**Lokalita 6353 Vojtkov**

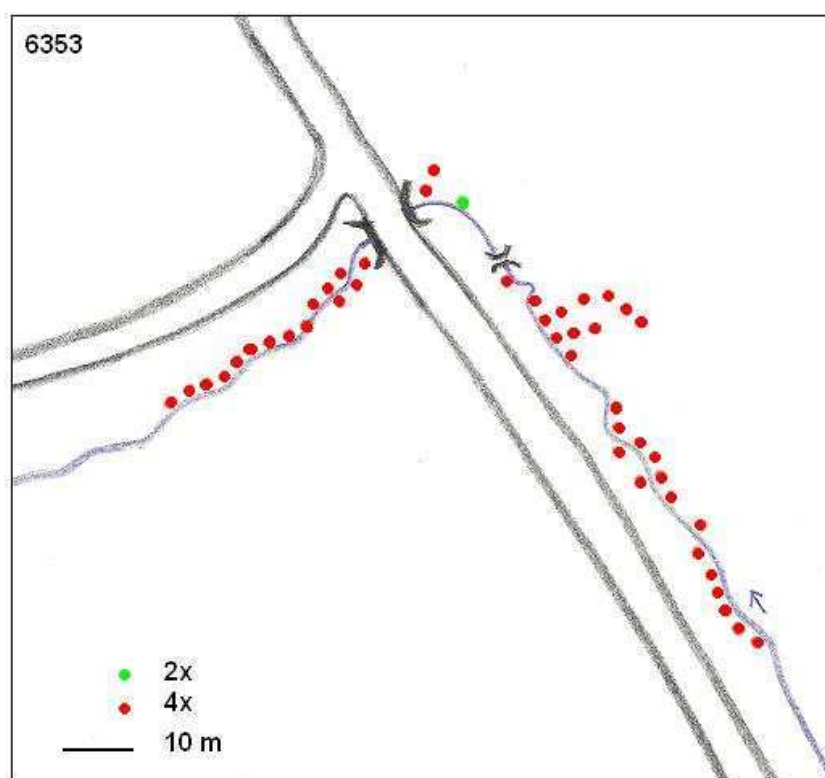
Lokalita se nachází ve Votické pahorkatině v nadmořské výšce 432 m. Populace se nalézá podél potoka u křižovatky silnic jižně od obce Vojtkov (obr. 30, 31). V této populaci byl v roce 2007 zaznamenán diploidní a tetraploidní cytotyp, konkrétně 2 diploidi a 8 tetraploidů. V následující sezóně bylo na této lokalitě analyzováno 45 rostlin. Z tohoto počtu byla zaznamenána pouze jedna diploidní rostlina a 44 tetraploidních rostlin, jak je zachycené na obrázku 32. Diploidní cytotyp má na této lokalitě jen minoritní zastoupení.



Obr. 30: Fotografie lokality 6353.



Obr. 31: Mapa lokality 6353 ([www.supermapy.atlas.cz](http://www.supermapy.atlas.cz)).



Obr. 32: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6353.



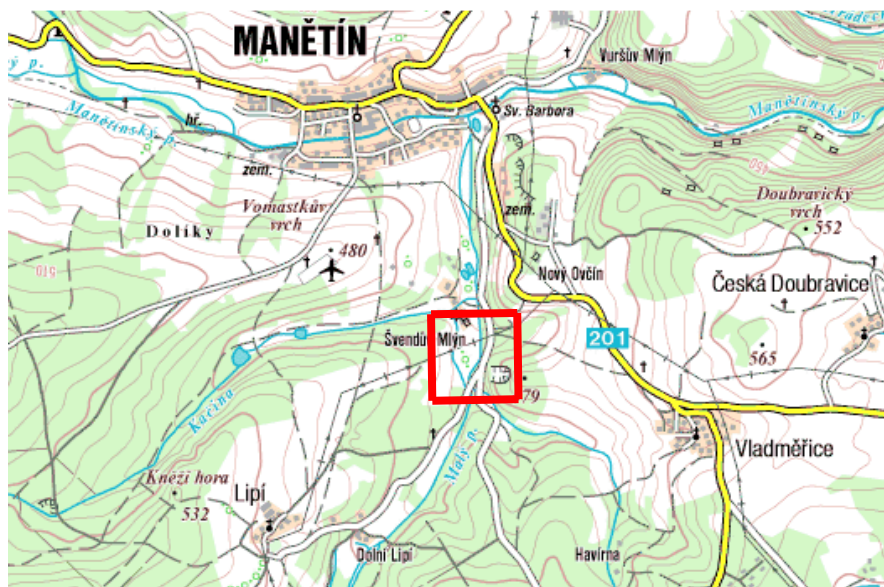
### Lokalita 6045 Lipí

Lokalita se nalézá v Plzeňské pahorkatině v nadmořské výšce 436 m. Populace roste podél dvou potoků, které se stékají v jeden, jižně od Manětína u odbočky k obci Lipí (obr. 33, 34). Jedná se o jedinou lokalitu, kde byly v roce 2007 detekovány všechny tři plodní úrovně. Z prvotního sběru 10 rostlin byly tři rostliny diploidní, pět triploidních a dvě tetraploidní. V sezoně 2008 bylo při podrobné studii analyzováno 73 rostlin. Tentokrát byly zachyceny jen dvě plodní úrovně. Převažoval diploidní cytotyp o 55 jedincích nad triploidním s 18 jedinci. Z prostorového uspořádání rostlin na obrázku 35 je patrné, že dochází k prolínání ploidí v rámci lokality. V liniovém uspořádání ploidie netvoří dvě ucelené skupiny, ale jsou na lokalitě místy střídavě rozmístěné.

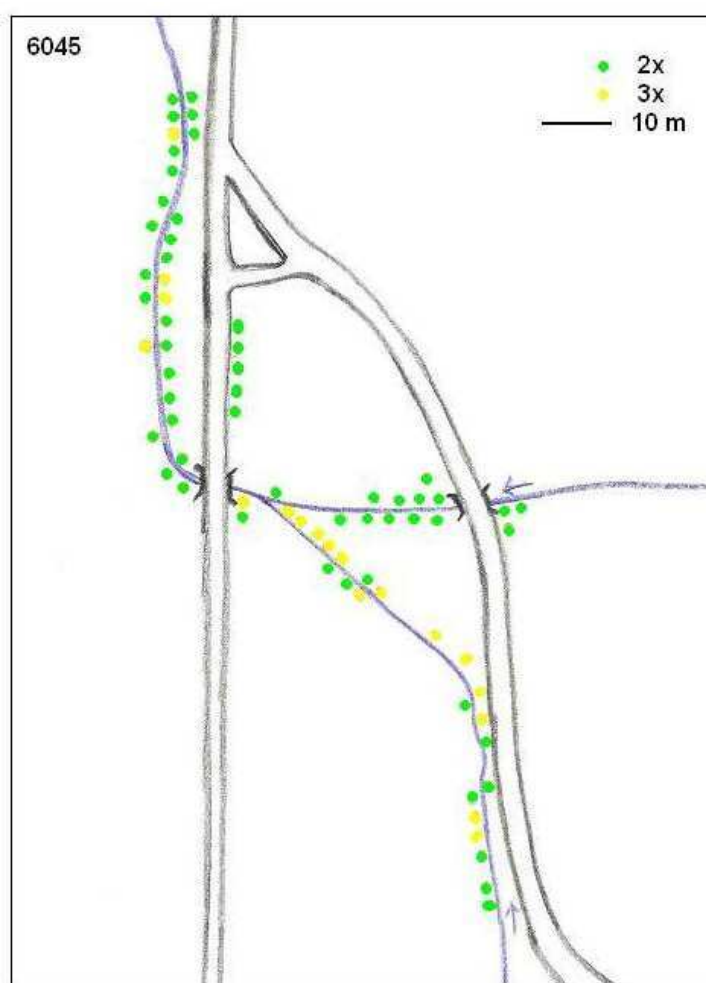


Obr. 33: Fotografie lokality 6045.





Obr. 34: Mapa lokality 6045 ([www.supermapy.atlas.cz](http://www.supermapy.atlas.cz)).



Obr. 35: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6045.

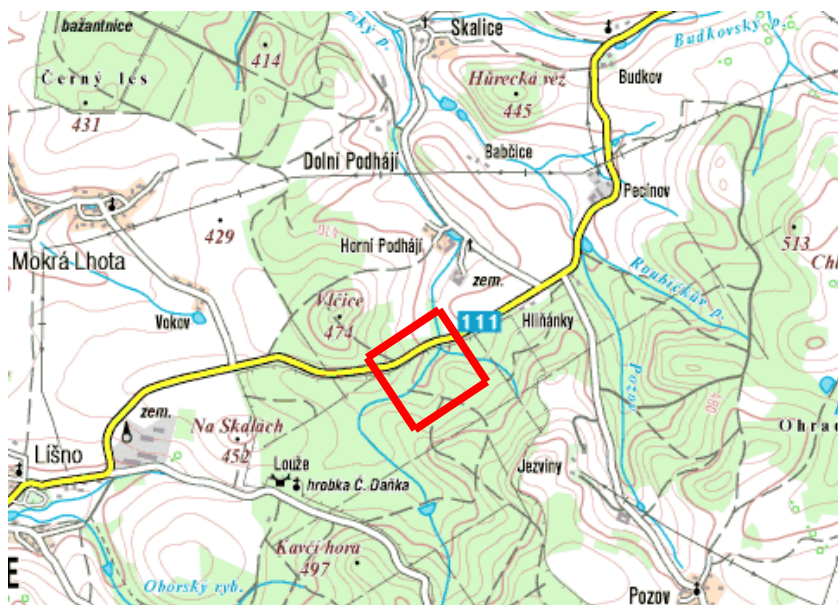
**Lokalita 6254 Hliňánky**

Lokalita se nachází ve Votické pahorkatině v nadmořské výšce 405 m. Početná populace se nalézá v hájovém porostu a podél potoka u silnice č. 111 mezi obcemi Hliňánky a Líšno (obr. 36, 37). V rámci sběru v roce 2007 bylo z 10 rostlin jedna diploidní a 9 rostlin triploidních. V roce 2008 byla lokalita díky vysoké četnosti triploidního cytotypu vybrána pro podrobné studii, při níž bylo celkem analyzováno 80 rostlin. Z tohoto počtu bylo 46 rostlin diploidních a 34 rostlin triploidních. Populace této lokality tvoří zcela ucelené shluky podle ploidii, jak je možné vidět na prostorovém uspořádání populace (obr. 38). Diploidní jedinci jsou často promísení do shluku jedinců triploidních a naopak.

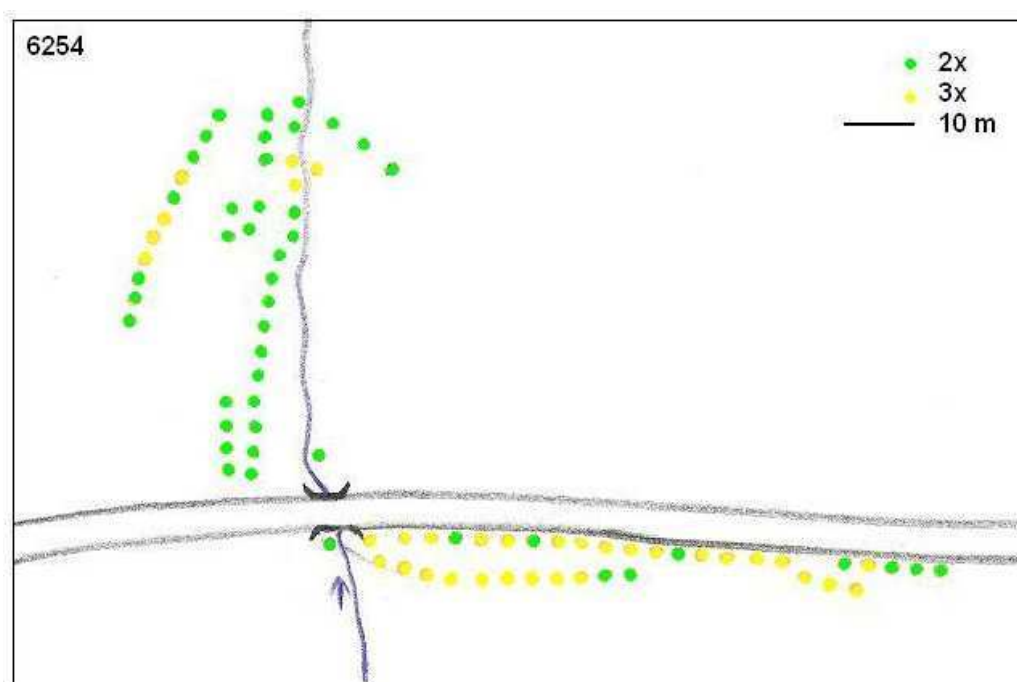


Obr. 36: Fotografie lokality 6254.





Obr. 37: Mapa lokality 6254 (www.supermapy.atlas.cz).



Obr. 38: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6254.

Z této smíšené populace byly pěstovány triploidní rostliny na pozemcích Katedry botaniky PřF UK. Triploidní rostliny v průběhu pěstování vytvořily plody (obr. 39), tudíž se dá předpokládat, že tento cytotyp je schopen se na lokalitách alespoň do jisté míry sexuálně rozmnožovat.



Obr. 39: Fotografie plodícího triploidního jedince z lokality 6254 Hlíňanky.

## 5. KARYOLOGIE

### 5.1. Úvod

Karyologicky je rod *Cardamine* dobře známý. V databázi počtů chromozómů rodu *Cardamine* (Kučera *et al.* 2005) je uvedeno 3020 záznamů o 96 druzích tohoto rodu, informace jsou převzaté 234 literárních zdrojů. Z celkového odhadovaného počtu 200 druhů tyto záznamy reprezentují přibližně 48 % pro něž je znám alespoň jeden záznam o počtu chromozómů. První zmínky o počtech chromozómů druhu *Cardamine amara* byly zveřejněny v pracích Lawrence (1931), Manton (1932) a Mattick (v Tischler 1950).

Mitotické chromozómy jsou velmi malé, často menší než 1  $\mu\text{m}$  (Lihová & Marhold 2006), což velmi komplikuje cytogenetické studie. Druh *Cardamine amara* zahrnuje diploidní (2x) a tetraploidní (4x) cytotypy. Diploidní jedinci se vyznačují 16 chromozómy a tetraploidi 32 chromozómy v somatických buňkách (Marhold 1994, 1999b, Marhold *et al.* 2007).

### 5.2. Charakteristika metody

K počítání chromozómů byla použita klasická metoda roztlačkových preparátů popsaná v pracích Lihová *et al.* (2000), Murín (1960) a Mártonfi *et al.* (1999). Metoda se skládá ze čtyř základních fází: předpůsobení, fixace, macerace a barvení. Předpůsobení ovlivňuje živé tkáně před fixací tím, že snižuje viskozitu cytoplazmy a naruší strukturu dělicího vřeténka, čímž zablokuje mitotický cyklus ve stádiu metafáze. Dále působí na zkrácení chromozómů. Fixace slouží k rychlému a šetrnému usmrcení tkání, aby zůstala zachovaná neporušená struktura chromozómů. Dalším krokem v proceduře je macerace, jejím účelem je rozrušení střední lamely, aby bylo možné rozprostřít buňky v jedné vrstvě (Krahulcová 1998). Konečnou fází přípravy karyologických preparátů je samotné barvení. Barviv a postupů barvení existuje celá řada. V našem případě bylo použito Giemsovo barvivo.

### 5.3. Postup roztlakových preparátů

DNA plodní úroveň všech studovaných rostlin byla stanovena pomocí průtokové cytometrie. Pro standardizaci cytometrických analýz byla použita metoda přímého počítání chromozómů. Příprava roztlakových preparátů a počítání chromozómů bylo provedeno v cytometrické laboratoři PřF UK. Chromozómové počty byly počítány na mitotických buňkách z kořenových špiček rostlin odebraných z lokalit na jaře a na podzim roku 2007 a pěstovaných ve standardizovaných podmínkách na experimentálních pozemcích katedry botaniky PřF UK.

V ranních hodinách byly odebrány kořínky do zkumavek s 0,002 M 8-hydroxy-chinolinem (290 mg na 1 l destilované vody, rozpuštěno přes noc) a umístěny na 5 hodin do lednice. Po uplynulé době předpůsobení byly kořínky promyty destilovanou vodou a fixovány po dobu 1 hodiny (v případě potřeby i přes noc) v čerstvě připraveném roztoku fixáže (kyselina octová a 95 % ethanol v poměru 1:3). Pro případ potřeby delšího skladování byla fixační směs nahrazena 75 % ethanolem.

Následující den byly kořínky z fixáže vyjmuty a propláchnuty destilovanou vodou a následně ponořeny na 10 minut do destilované vody. Po usušení na filtračním papíře byly kořínky vloženy do čerstvého maceračního roztoku (koncentrovaná HCl a 95 % ethanol v poměru 1:1) na dobu 3–5 minut dle tloušťky jednotlivých kořínků. Po promytí (10 minut v destilované vodě) následovala samotná příprava trvalých preparátů. Kořínky byly položeny na podložní sklíčko a pomocí skalpelu byla odstraněna nedělicí část, takže na sklíčku zůstala pouze špička kořínku s dělivým pletivem. Na podložním sklíčku pod předem namočeným celofánem (Murín 1960) byly kořenové špičky opatrně rozetřeny, aby se buňky rozprostřely do jedné roviny. Po 1–2 minutách byl celofán opatrně sejmут a sklíčko byla umístěna na 1,5 hodiny do 10 % Giemsova barviva v Sørensen fosfátovém pufru. Po dokončení barvení následovalo opláchnutí preparátů a samotné pozorování pod mikroskopem. Vhodné buňky byly vyhledány za zvětšení 200x. Vlastní počítání chromozómů při zvětšení 1000x díky použití imersního objektivu na mikroskopu Olympus BX-61.

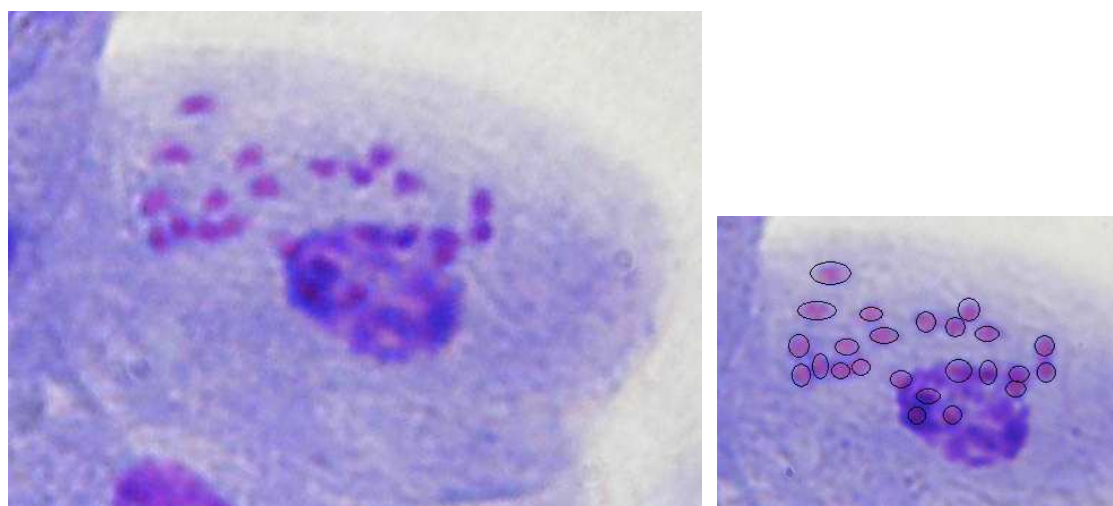
## 5.4. Výsledky

Pomocí klasické metody roztakových preparátů byl stanoven počet chromozómů u devíti rostlin, od každé ploidie tři rostliny (tab. 7).

V rámci diplomové práce byly potvrzeny počty chromozómů u diploidů a tetraploidů udávané v literatuře. Zcela nově byl stanoven počet chromozómů u triploidního jedince identifikovaného pomocí cytometrických měření. Triploidní jedinci se vyznačují 24 chromozomy v somatických buňkách (obr. 40). Jedná se o první doklad výskytu triploidní cytotyp ( $2n = 3x = 24$ ) u druhu *Cardamine amara* v ČR.

Tab. 7: Počty chromozómů zjištěné metodou roztakových preparátů.

Lokalita	Číslo rostliny	Ploidie	Počet chromozómů
5553 – Tubož	5553/1	2x	16
	5553/2	2x	16
5849 – Lánská obora	5849/1	2x	16
6045 – Lipí	6045/2	3x	24
	6045/4	3x	24
	6045/7	3x	24
7251 – Bohdalovice	7251/1	4x	32
	7251/2	4x	32
6845b – Železná Ruda	6845/1	4x	32



Obr. 40: Chromozómy triploidní rostliny č. 6045/7 ( $2n = 24$ ) nalezené na lokalitě 6045 Lipí.

## 6. DRUHY ALPSKÉ MIGRACE

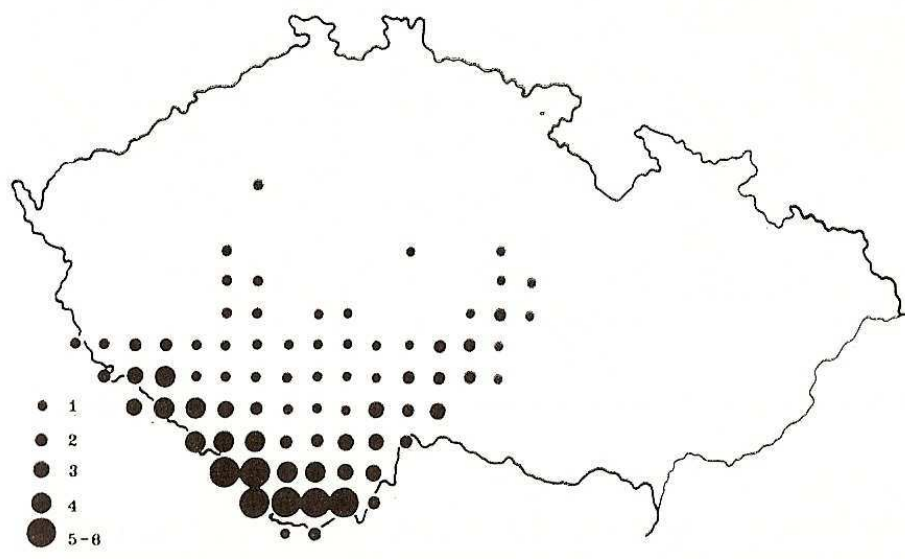
### 6.1. Úvod

Klimatické změny ve čtvrtohorách, zejména během pleistocénního zalednění, měly zásadní vliv na biotu způsobující separaci, migraci a vyhynutí druhů stejně jako jejich zrychlenou evoluci. Dramatické klimatické a stanovištní změny během ledových dob způsobily v řadě případů rozlišení evolučních linií v rámci druhů (Comes & Kadereit 1998, Taberlet *et al.* 1998, Hewitt 1999, Tribsch *et al.* 2002, Trisch & Schönswetter 2003). Po ústupu ledovce následovala rychlá expanze druhů do dříve zcela zaledněných oblastí.

Dosavadní fylogeografické studie (např.: Petit *et al.* 1997, Hewitt 1999, Gugerli *et al.* 2001, Palmé *et al.* 2003) poskytovaly informace převážně o migracích v rámci celých kontinentů a věnovaly se zejména migracím dřevin. V posledních letech jsou ale časté i studie, které se zabývají postglaciální historií různých bylinných druhů (Gabrielsen *et al.* 1997, Zhang *et al.* 2001, Stehlik *et al.* 2001, 2002, Schönswetter *et al.* 2002, 2004a, 2004b, Tribsch *et al.* 2002, Trisch & Schönswetter 2003, Rejzková 2006, Lihová *et al.* 2008). Genetická variabilita některých druhů umožňuje nalézt jejich pravděpodobná refugia a migrační cesty.

Rozšíření mnoha druhů ve střední Evropě výrazně ovlivnila karpatská a alpská migrační cesta. Alpská migrační cesta má za následek i rozšíření některých druhů na jižní části České republiky. Slavík (1988) zmiňuje v Květeně ČR fytochorotyp *Salix appendiculata* – *Veratrum album*, jeden z oreofytních fytochorů, který je rozšířený pouze v pohořích s alpským vlivem, tj. především v jihočeském oreofytiku a někdy i v přilehlých území mezofytika. Do této skupiny řadí např. druhy: *Willemetia stipitata*, *Duschekia alnobetula*, *Salix appendiculata* a *Soldanella montana*. V práci Hendrycha (Hendrych 1984) je zmíněn alpský geoelement zastoupený na území Čech druhy: *Soldanella montana* a *Gentiana panonnica*. V další jeho studii (Hendrych 1985) uvádí celkové rozšíření alpských migrantů v Čechách (obr. 41) pro alpské migranty jako např.: *Willemetia stipitata*, *Salix appendiculata*, *Alnus viridis* a *Thesium rostratum*. Za alpské migranty považuje druhy, které jsou v jejich areálu napojeny téměř výlučně na oblast Alp na jejich přilehlé jižní oblasti. Tyto druhy mají v Čechách těžiště výskytu na Šumavě a v Novohradských horách, dále zasahují do jižních Čech a na Českomoravskou vrchovinu. Na rozdíl od karpatských migrantů nemají sklon zasahovat do Krušných hor.





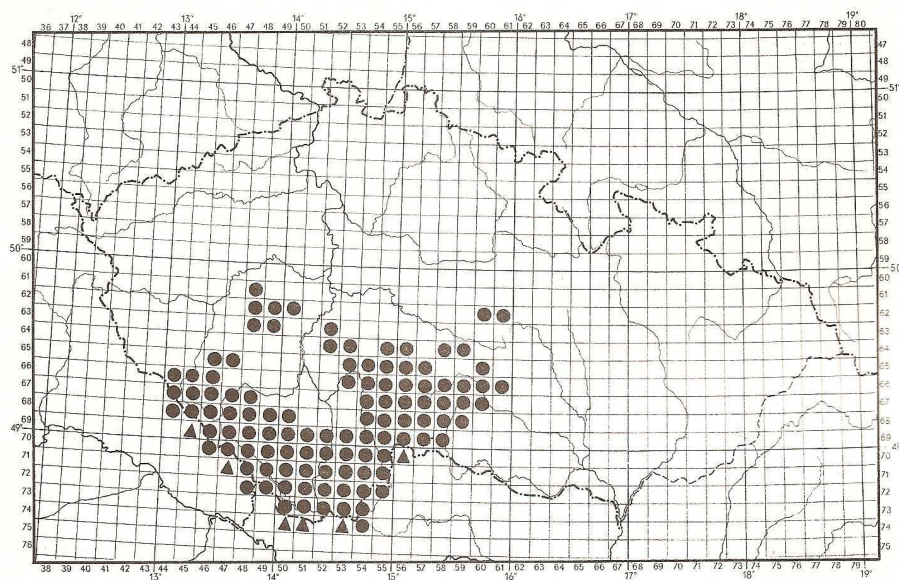
Obr. 41: Obecné rozšíření druhů alpské migrace v ČR, velikost kolečka značí počet druhů v oblasti (Hendrych 1985).

*Cardamine amara* subsp. *austriaca* osidluje areál, který byl po čas posledního glaciálního maxima z podstatné části zaledněný, byl přilehlý k alpskému ledovci nebo byl zaledněním podstatně ovlivněný. Vzhledem k tomuto a též vzhledem na pravděpodobný recentní vznik tohoto geneticky málo diferencovaného poddruhu se předpokládá, že kolonizoval Alpy a aspoň podstatnou část svého současného areálu postglaciálně. Je otázkou, či kolonizace jeho současného areálu byla jednorázová a jednou cestou anebo vícenásobná a vícerymi kolonizačními cestami. Cílem této diplomové práce bylo práce zjistit s pomocí AFLP analýz, jestli česká část areálu poddruhu byla kolonizovaná jednorázově a zda populace v ČR tvoří jednu samostatnou linii.

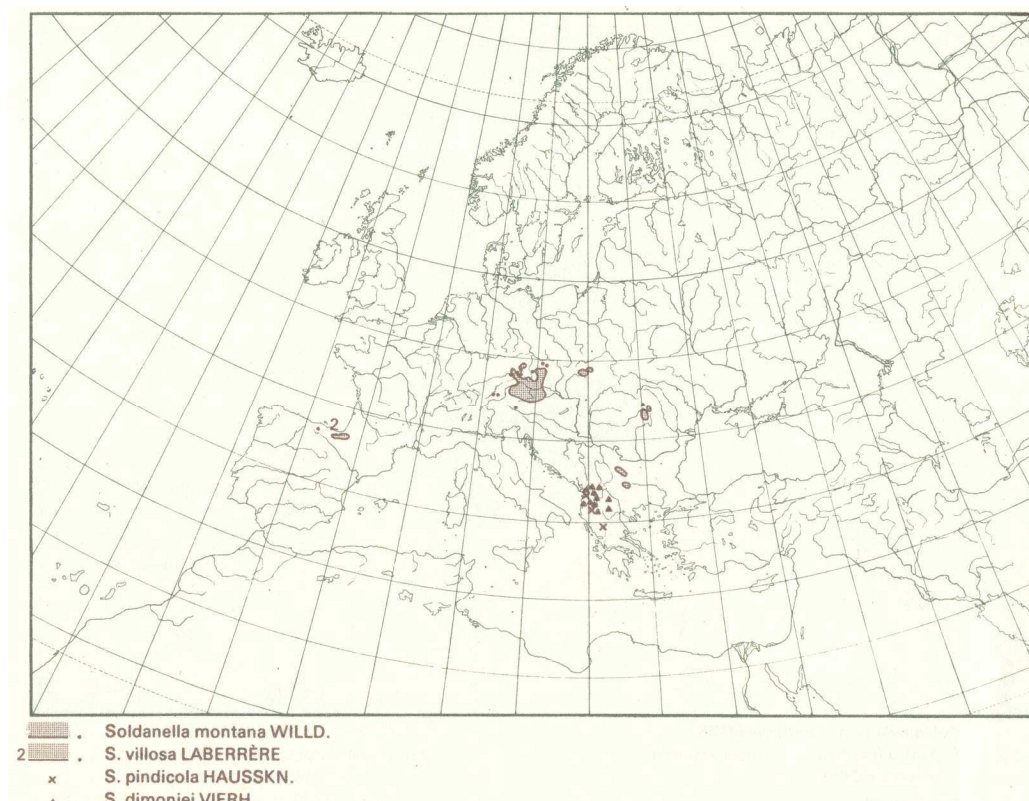
Pro srovnání uvádím podrobnější data z literatury k některým druhům alpského elementu v Čechách.

## 6.2. *Soldanella montana* Willd.

Druh popsáný z Šumavy je jeden z významných zástupců alpského migrantu v ČR. Těžiště výskytu *Soldanella montana* je téměř výhradně na území jižní části Čech (obr. 42). Mimo Šumavu a Novohradské hory se dále vyskytuje v Budějovické a Třeboňské pánvi a roztroušeně na Českomoravské vrchovině a v Jihlavských vrších. Ojedinelé výskyty byly zaznamenány i v Jihočeské pahorkatině a Středním Povltaví, Táborsko-vlašimské pahorkatině a Votické vrchovině. Své severní areálové hranice dosahuje v Brdech a Železných horách (Chán 1999). Roste ve smrkových lesích a to zejména kolem pramenišť a potoků, v rašelinných loukách, na vlhkých na živiny chudých, humózních a kyselých půdách. Patří mezi diagnostické druhy svazu *Piceion excelsae*. *Soldanella* je entomogamní a alogamní vytrvalá bylina s vystoupavým oddenkem, rozšiřuje se anemochorně (Kovanda 2003). Centrum výskytu je ve východních Alpách s předhůřími a přilehlá část Českého masívu, izolované lokality v Západních a Východních Karpatech a na Balkánském poloostrově (pohoří Rila a Stara Planina) (obr. 43). Územím ČR probíhá severní hranice celkového rozšíření druhu. Migrační cesta vedla z Alp na Šumavu, Novohradské hory odtud dále do Brd a na Českomoravskou vysočinu (Růžička 1968, Štěpán 1970).



Obr. 42: Rozšíření *Soldanella montana* v ČR, ● - prezence taxonu (Slavík 1988).

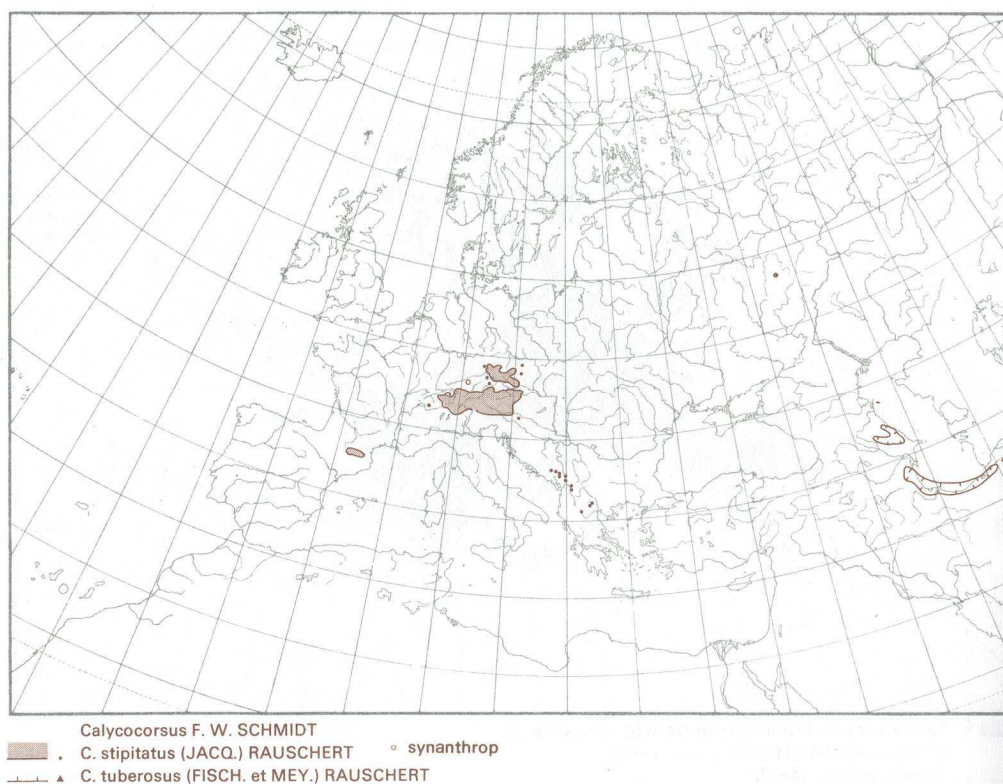


Obr. 43: Rozšíření *Soldanella montana* v Evropě (Meusel et al. 1978).

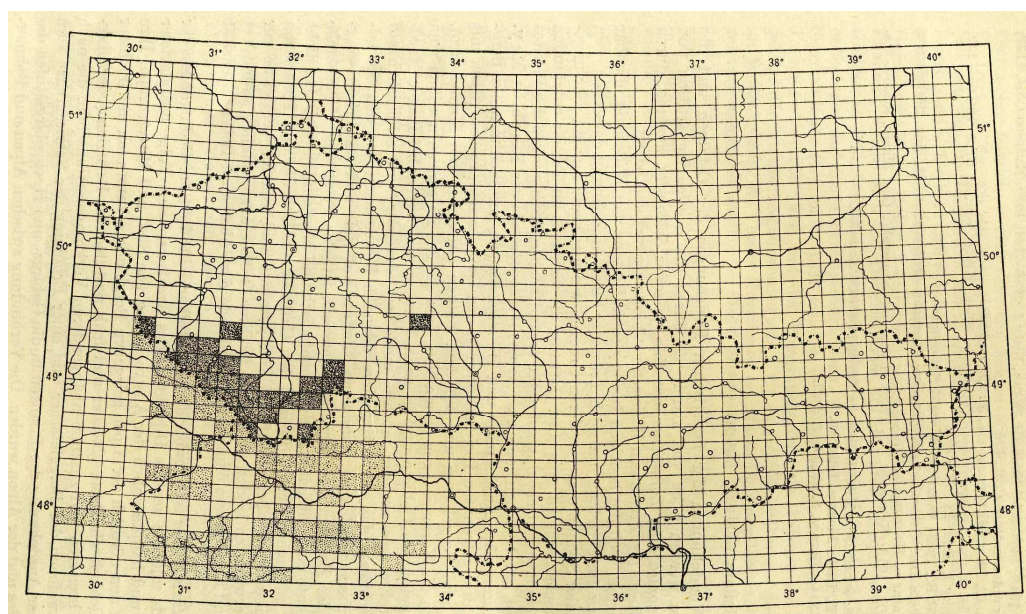
### 6.3. *Willemetia stipitata* (Jacq.) Dalla Torre

Těžiště výskytu plešky stopkaté je ve střední Evropě. Areál tvoří Alpy s předhořími a izolované lokality jsou i v Pyrenejích (obr. 44). Pleška představuje v Čechách prvek alpského migrantu. Vyskytuje se především na Šumavě a Novohradských horách, odkud dále v Šumavsko-novohradském podhůří, Blatensku a až na Jihočeské pahorkatině (obr. 45). Přes Třeboňskou pánev již řidčeji zasahuje až na Českomoravskou vrchovinu a do Jihlavských vrchů (Chán 1999). Na našem území probíhá severní hranice jejího celkového rozšíření. *Willemetia* představuje entomogamní, alogamní vytrvalou bylinu s nevětveným oddenkem, která se rozšiřuje anemochorně. Vyskytuje se na rašelinných nízkostébelných loukách, obvykle s dobře vyvinutým mechovým patrem, dále v rašelinných svahových prameništích a potočních nivách. Roste na zamokřených, živinami chudých půdách. Vyskytuje zejména ve společenstvech svazů *Caricion fuscae* a *Sphagno recurvi*-*Caricion canescentis* (Kirschnerová 2004).





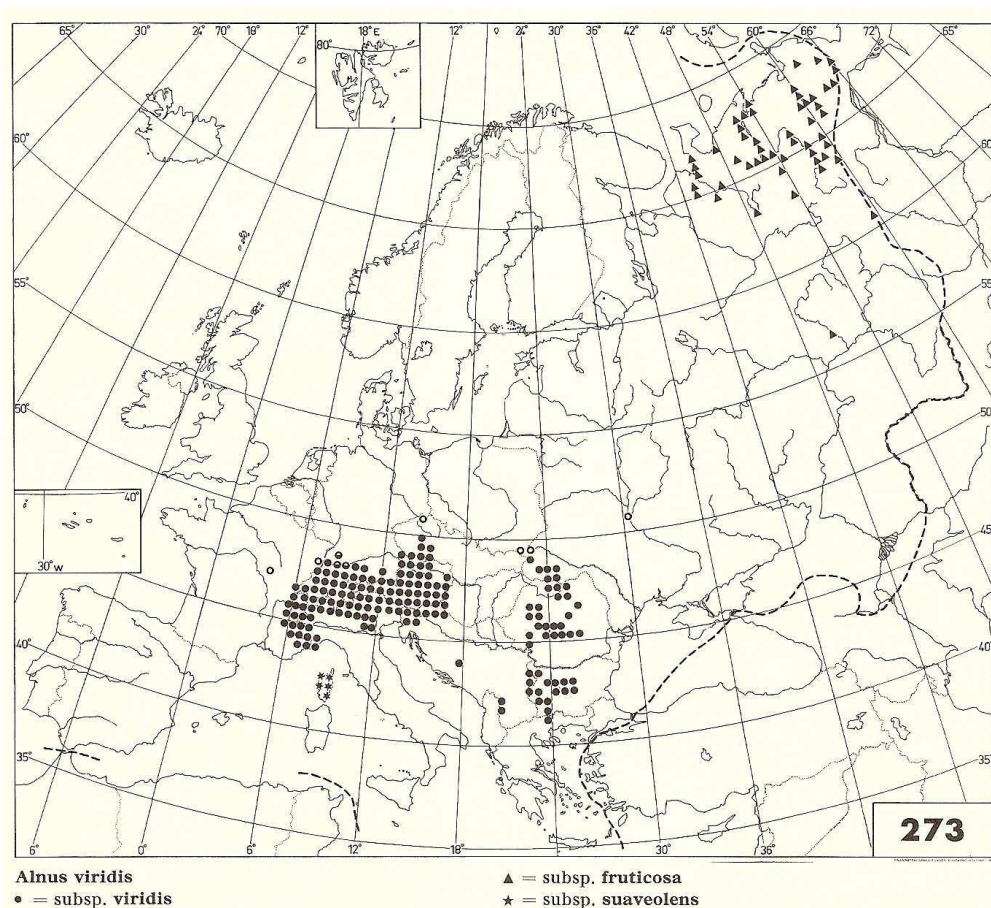
Obr. 44: Rozšíření *Willemetia stipitata* v Evropě (Meusel & Jäger 1992).



Obr. 45: Rozšíření *Willemetia stipitata* v ČSR, zabarvené pole značí výskyt druhu, na území Čech jsou pole zabarveny sytěji (Kláštorský 1961).

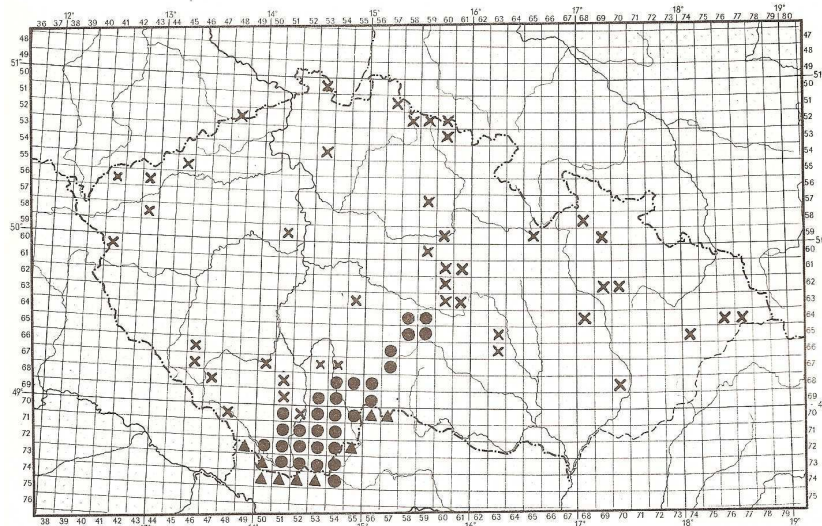
#### 6.4. *Duschekia alnobetula* (Ehrh.) Pouzar

Jedná se o významný druh alpského migrantu. Původní výskyt je uváděn v jihovýchodní části Šumavsko-novohradského podhůří, v Třeboňské pánvi, na jihozápadní části Českomoravské vrchoviny, na Šumavě, v Hornovltavské kotlině, na Svatotomášské hornatině a v Novohradských horách (obr. 47). Existují také fosilní doklady o výskytu *Duschekia alnobetula* na Třeboňsku. Tato dřevina je často vysazována a posléze se druhotně šíří. Druhotně se vyskytuje v Bohdaneči, Břvích, Plzeňské pahorkatině, Železných horách, Krušných horách, Krkonoších a Jeseníkách. Celkově je druh rozšířen v pohořích střední Evropy a Balkánského poloostrova a též na Korsice (obr. 46). Tento anemogamní keř se rozšiřuje anemochorním způsobem. Roste na lesních a jednotlivé keře i na pastvinách, avšak pouze na silikátových půdách (Chán 1999, Kovanda 2003).



Obr. 46: Rozšíření *Duschekia alnobetula* v Evropě (Jalas 1976).

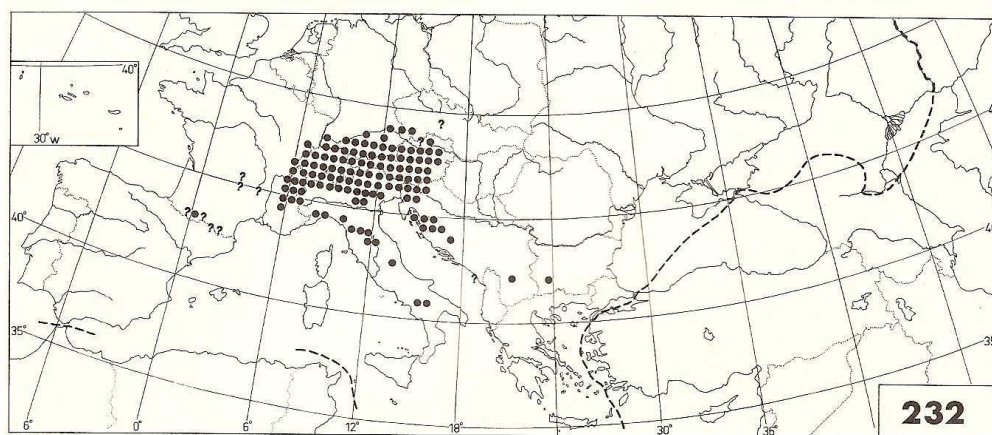




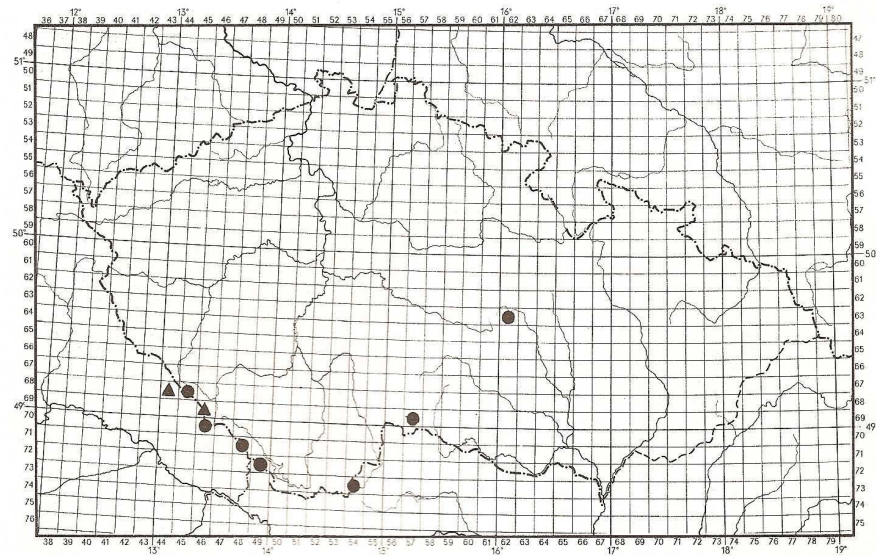
Obr. 47: Rozšíření *Duschekia alnobetula* v ČR, ● původní výskyt, x sekundární výskyt (Slavík 1990).

## 6.5. *Salix appendiculata* Vill.

*Salix appendiculata* představuje další druh alpského migrantu v Čechách. Jeho rozšíření je omezeno na oblast Šumavy a Novohradských hor (obr. 49). Na Šumavě se vyskytuje v sutích mezi karovými stěnami nad Plešným a Černým jezerem, a také u Prášilského jezera. V Novohradských horách u Pohoří na Šumavě. Celkově je druh rozšířen ve Střední Evropě, v Alpách a jejich předhůřích, Schwarzwaldu a Bavorském lese (obr. 48). Tento entomogamní keř se rozšiřuje anemochorně. Roste na mokvajících sutích a drolinách karových strží, v pobřežních společenstvech podél potoků, v horských soutěskách, lavinových svazích a subalpínských křovinách. Nalézají se ve společenstvech *Dryopteridi-Athyrium* zejména v asociaci *Gentiano panonicae-Athyrium alpestre* (Chán 1999, Chmelař & Koblížek 2003).



Obr. 48: Rozšíření *Salix appendiculata* v Evropě (Jalas 1976).

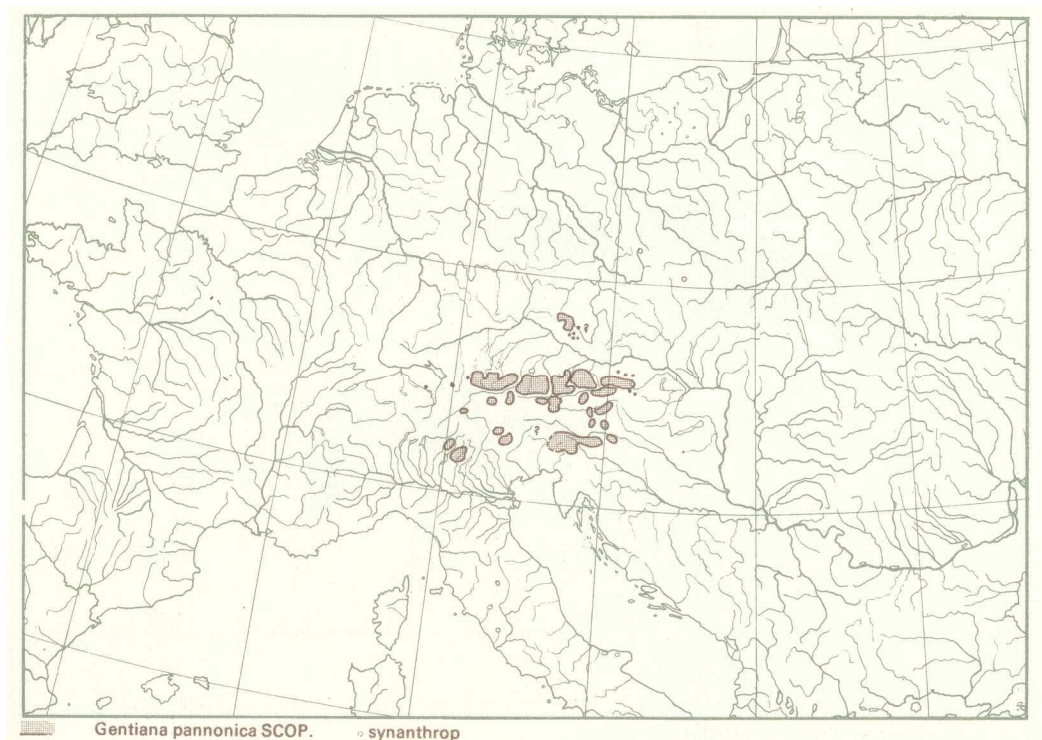


Obr. 49: Rozšíření *Salix appendiculata* v ČR, ● - prezence taxonu, ▲ – výskyt v pohraničním poli, ale již za hranicemi ČR (Slavík 1990).

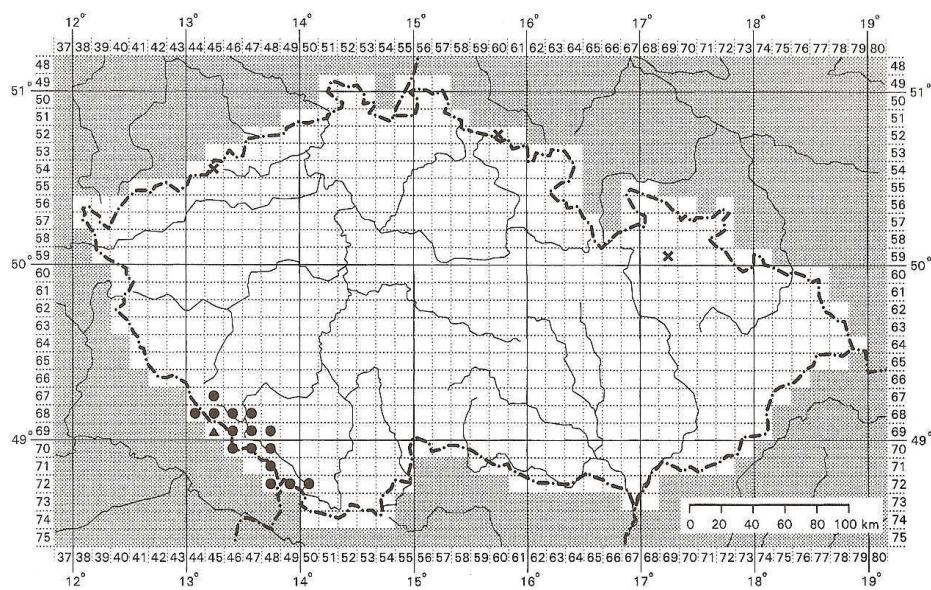
## 6.6. *Gentiana pannonica* Scop.

Hořec šumavský je prvkem alpské migrace v české květeně. V ČR se vyskytuje v oblasti Kvidských plání, v širším okolí Železné Rudy a vzácněji v oblasti Plechého, Třístoličníku a u Zvonkové (obr. 51). Šumavská izolovaná arela představuje nejsevernější část celkového areálu. Výskyt v Krkonoších (Studniční hora) a Hrubém Jeseníku (u chaty Barborka) není původní, druh byl zde vysazen. Celkové rozšíření *Gentiana pannonica* je omezeno na východní Alpy a druh se dále ostrůvkovitě vyskytuje v jihovýchodních Alpách (obr. 50). Tato vytrvalá bylina s mohutným oddenkem je entomogamní, autogamní a se šíří anemochorně pomocí křídlatých semen. Roste na horských pastvinách a loukách, často také v nivách horských potoků a v karech, na živinami chudých mírně vlhkých půdách kyselé reakce. Patří mezi diagnostické druhy asociace *Gentiono pannonicae-Athyrium*, nejčastěji ji nalezneme ve svazech *Nardion* a *Dryopteridi-Athyrium* (Procházka 1961, Chán 1999, Kirschner & Kirschnerová 2000).





Obr. 50: Rozšíření *Gentiana pannonica* v Evropě (Meusel et al. 1978).



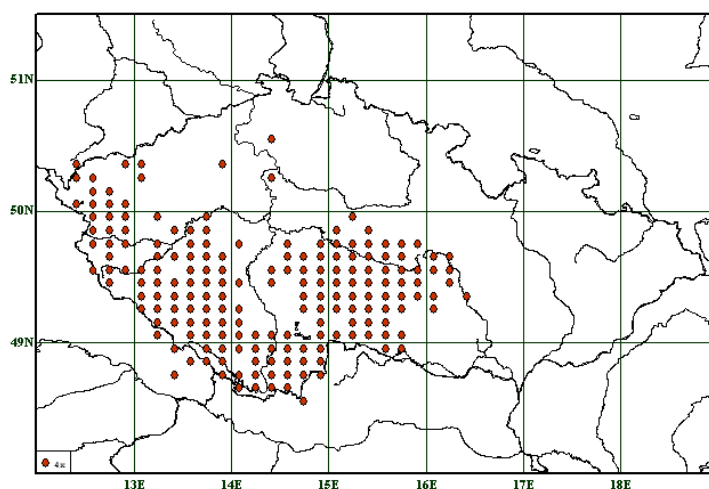
Obr. 51: Rozšíření *Gentiana pannonica* v ČR, ● původní vyskyt, X sekundární vyskyt (Slavík 2000).



## 6.7. *Cardamine amara* subsp. *austriaca* Marhold

Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *austriaca* souvisí s oblastí silně ovlivněné Pleistocénním zaledněním, je odhadováno, že autoployploidizace a ustanovení tohoto nového tetraploidního druhu se událo během poslední doby meziledové nebo doby poledové, když se uvolnily stanoviště po ustoupení ledovce (Marhold & Lihová 2006).

Těžiště areálu *Cardamine amara* subsp. *austriaca* se nalézá ve východních Alpách a přilehlých oblastech a je to jeden z prvků alpské migrace v České republice. Výskyt *C. amara* subsp. *austriaca* byl zjištěn v Německu, Švýcarsku, Rakousku, Itálii, ČR (Marhold 1999b), Slovinsku (Lihová & Marhold 2003) a Chorvatsku (Kučera & Marhold 2006). V České republice byl tento druh nalezen na Šumavě a Novohradských horách, Českém Slavkovském lese, Budějovické a Třeboňské pánvi, Českomoravské vrchovině, Žďárských a Jihlavských vrších, Jihočeské pahorkatině, Středním Povltaví, Táborsko-vlašimské pahorkatině, Plzeňské pahorkatině, Křivoklátsku, Votické vrchovině, Brdech a Železných horách. Populace tetraploida byly nalezeny i v Krušných horách a ojedinělý výskyt byl zaznamenán v Libochovické tabuli (obr. 52).



Obr. 52: Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *austriaca* v ČR na základě vlastních dat.

Poddruh *C. amara* subsp. *austriaca* má širokou ekologickou amplitudu, vyskytuje se v horách ale není striktně vázaný na horské biotopy. Rozmnožuje se semeny i vegetativně, o čemž svědčí rozmístění diploidních a tetraploidních cytotypů na podrobně zkoumaných lokalitách. Rozšiřuje se anemochorně a hydrochorně podél vodních toků, případně při lokálních povodních. Toto vše může přispívat k tomu, že tento poddruh má větší areál v Čechách než ostatní příklady alpských migrantů.

## 7. AFLP (AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM)

### 7.1. Úvod

AFLP marker se využívá pro široké spektrum řešených problémů od fylogenetických vztahů na nižších taxonomických úrovních, řešení původu polyploidních taxonů až po fylogeografické a populačně genetické studie. V rodě *Cardamine* je známé množství úspěšných aplikací. Fylogenetické vztahy a taxonomické otázky byly s využitím tohoto markeru řešeny v okruzích *Cardamine pratensis* (Lihová *et al.* 2003, 2004b, Marhold *et al.* 2004), *C. amara* (Lihová *et al.* 2000, 2004a, Marhold *et al.* 2004), *C. raphanifolia* (Marhold *et al.* 2004, Perný *et al.* 2005a) a *C. maritima* (Kučera *et al.* 2008). AFLP marker byl využitý dále na řešení vztahů druhů *C. impatiens* a *C. pectinata* (Kučera *et al.* 2006) a oprávněnosti rozlišování druhu *C. pancicii* (Lakušić *et al.* 2006). Otázka původu polyploidního druhu byla řešena s využitím AFLP dat u kalábrijského endemita *C. silana* (Perný *et al.* 2005b). S využitím AFLP markeru byly potvrzené dva hybridy v tomto rodě (Marhold *et al.* 2002, Lihová *et al.* 2007). Nejnověji byl tento marker využitý i pro řešení čistě fylogeografických otázek v rodě *Cardamine*, jmenovitě u druhů *C. alpina*, *C. resedifolia* a *C. scutata* (Lihová *et al.* 2008; Lihová *et al.*, in prep.).

### 7.2. Charakteristika metody

AFLP je velmi účinná typizační metoda představená prací Vos *et al.* (1995). AFLP představuje důmyslnou kombinaci spolehlivé metody RFLP se silou a flexibilitou PCR. Jde o robustní a spolehlivou metodu aplikovatelnou prakticky na všechny organismy s DNA jakéhokoli původu a komplexity. Metodou je možné generovat a vizualizovat sadu restričních fragmentů bez znalosti jejich nukleotidové sekvence. AFLP je určena pro zjištění polymorfismu v celkové genomové DNA a poskytuje vysoké rozlišení a reprodukovatelnost. Základním principem metody je štěpení DNA pomocí dvou restričních endonukleáz na fragmenty, z kterých je následně jen určitá část selektivně amplifikována. U těchto fragmentů se hodnotí polymorfismus v délce (Vos *et al.* 1995, Mueller & Wolfenbarger 1999, Weising *et al.* 2005, Bussell *et al.* 2005).

Mezi výhody této metody patří především skutečnosti: 1) podobně jako i pro jiné metody založené na PCR pro analýzu postačuje jen malé množství DNA (ca 250–500 ng); 2) není dopředu potřebná znalost nukleotidové sekvence ani design primerů; 3) je dosahovaná vysoká reprodukovatelnost (např. v porovnání s RAPD markery); 4) získává se vysoké rozlišení díky velkému počtu AFLP fragmentů (v podstatné míře vzájemně nezávislých, které jsou generované z různých částí genomu).

Nevýhodami této techniky je: 1) anonymnost fragmentů v smyslu jejich nukleotidové sekvence a lokalizace v genomu; 2) dominantní charakter (nemožnost odlišit heterozygota); 3) značná citlivost na reakční podmínky, kvalitu DNA a teplotní profily PCR; 4) manuální skórování dat a tedy subjektivita v hodnocení AFLP profilů (Vos *et al.* 1995, Mueller & Wolfenbarger 1999, Applied Biosystems 2005).

AFLP je všestranným nástrojem pro mnoho využití v diagnostice, fylogenetických a taxonomických studiích, populační genetice, charakterizaci zárodečné plazmy, identifikace klonů, zjišťování genetické diverzity na vnitro- i mezipopulační úrovni, ale i ve fytogeografii a kladistice (Mueller & Wolfenbarger 1999, Weising *et al.* 2005).

Laboratorní postup zahrnuje tyto kroky: restrikci celkové genomové DNA a ligaci oligonukleotidních adaptorů; selektivní amplifikaci setu restrikčních fragmentů ve dvou navazujících krocích (preselektivní a selektivní amplifikace); a separaci amplifikovaných fragmentů gelovou elektroforézou a jejich vizualizaci (původně bylo využíváno radioaktivní značení, dnes je to výlučně fluorescenční) (Vos *et al.* 1995, Applied Biosystems 2005). DNA je rozštěpována dvojicí restrikčních endonukleáz (nejčastěji *EcoRI* a *MseI*) na mnoho fragmentů. Na konce fragmentů jsou pomocí enzymu T4 DNA ligázy připojeny oligonukleotidové adaptory o známé sekvenci, které mají jeden konec komplementární k fragmentům rozštěpeným restrikčními endonukleázami. Výsledkem jsou fragmenty se známou počáteční a koncovou sekvencí (Vos *et al.* 1995, Applied Biosystems 2005).

Dále následuje amplifikace sady restrikčních fragmentů pomocí selektivních AFLP primerů. Pro dosažení amplifikace pouze části adaptovaných fragmentů jsou AFLP primery navrženy delší o jednu až tři náhodně zvolené báze na 3' konci. K amplifikaci a prodloužení primeru dochází jen při komplementárním párování 3' konce AFLP primeru. Z velkého počtu fragmentů je takto selektivním výběrem vybrána jen malá část, kterou lze snadno separovat a vyhodnotit (Vos *et al.* 1995, Applied Biosystems 2005, Šmarda 2005).

*EcoRI* primery jsou obvykle fluorescenčně značené, čímž je možné získané fragmenty detekovat pomocí automatického DNA sekvenátoru (Applied Biosystems 2005). Při použití vhodné kombinace fluorescenčních barviv je možné naráz (tj. v jedné dráze elektroforetického gelu nebo v jedné kapiláře DNA sekvenátoru) separovat fragmenty amplifikované vícero dvojicemi primerů (typicky třemi nebo čtyřmi dvojicemi), čili pro každý vzorek, či jedince je možné získat tři-čtyři nezávislé soubory AFLP fragmentů. K AFLP fragmentům se před aplikací do DNA sekvenátoru přidává fluorescenčně značený vnitřní standard, který slouží k identifikaci délky každého AFLP fragmentu. Typické rozpětí analyzovaných AFLP fragmentů je 50 až 500 bp.

Každá genetická data potenciálně obsahují určitý počet chybně identifikovaných genotypů (např. v důsledku kontaminace, technických artefaktů či lidského faktoru), proto se zejména v posledních letech zdůrazňuje potřeba identifikovat možné zdroje chyb ve všech fázích od sběru materiálu až po skórování AFLP profilů a předcházet jim (Bonin *et al.* 2004). Též se doporučuje uvádět míru reprodukovatelnosti získaných dat v podobě tzv. error rate. Pro výpočet této hodnoty se určitý počet vzorků (obvykle 10 % z celkového množství) opakuje od fáze extrakce DNA a získané AFLP profily replikovaných vzorků se porovnávají s profily příslušných vzorků (Bonin *et al.* 2004).

## 7.3. Postup

### 7.3.1. Postup extrakce DNA pomocí Qiagen DNeasy Plant Mini Kitu

DNA byla extrahována pomocí Qiagen DNeasy Plant Mini Kitu (Qiagen 2004) podle přiloženého protokolu.

Suché mladé lístky (ze silikagelu) *Cardamine amara* (cca 15 mg) byly umístěny do 2 ml mikrozkušavek Eppendorf spolu s 6 skleněnými kuličkami o průměru 3 mm. V mlýnku na drcení (Retsch MM200) byly vzorky třepány 5–7 min při 30 ot./s dokud nebyl materiál zcela rozdrčen. Do nadrceného prášku bylo přidáno 400 µl pufru AP1 a 4 µl RNasy A (100 mg/ml) po potřepání byla směs inkubována na 10 minut v 65 °C, během této doby byla 3 krát protřepána. Poté bylo přidáno 130 µl pufru AP2 a obsah promíchán a inkubován 5 minut v lednici. Směs byla centrifugována při maximální rychlosti centrifugy 16 000 ot./min. Supernatant byl přepipetován do fialové kolonky a centrifugován 2 minuty na maximální rychlost. Následně byl proteklý roztok přepipetován do nové 1,5 ml mikrozkušavky Eppendorf, byl přidán 1,5 násobek pufru AP3/E a obsah okamžitě promíchán pipetováním. 650 µl z tohoto roztoku bylo přepipetováno do bílé kolonky a 1 min centrifugováno na 10 000 ot./min. Proteklá frakce byla vylita. Tento krok byl opakován se zbylým množstvím roztoku. Poté bylo do bílé kolonky přidáno 500 µl pufru AW a centrifugováno 1 min při 10 000 ot./min. Následovalo opakované přidání 500 µl AW a centrifugace 2 min při 16 000 ot./min. Při přetrvávajícím zbarvení kolonky bylo přidáno 500 µl 96 % ethanolu a 2 min centrifugováno při 16 000 ot./min. Kolonka byla umístěna do nové 1,5 ml mikrozkušavky Eppendorf a přímo na ni bylo nanášeno 40 µl přehřátého pufru AE (65 °C). Obsah byl inkubován 5 min při pokojové teplotě a poté centrifugován 1 min při 8 000 ot./min.

Vzorky byly uchovány pro další analýzu v mrazáku při teplotě -20 °C. Inkubace při vyšších než pokojových teplotách probíhala v Thermomixeru comfort (Eppendorf). Všechny centrifugace probíhaly v centrifuze Eppendorf 5415D nebo 5415R.

#### 7.3.1.1. Spektrofotometrie

Pomocí spektrofotometru se měří celkové množství nukleových kyselin ve vzorku (DNA, RNA, oligonukleotidy a mononukleotidy). Poměr optické hustoty (OD) poskytuje

informaci o čistotě DNA vzorku. Čisté DNA jsou mezi 1,8 a 2,0, při kontaminaci jsou nižší hodnoty (Weising *et al.* 2005).

Na spektrofotometru Biophotometer Eppendorf byla zkontrolována čistota a změřena koncentrace všech vzorků. Vzorek DNA byl zředěn destilovanou vodou v poměru 1 : 10. V mikrokvetě byla určena optická hustota na 260/280 nm proti kontrole (destilovaná voda). Kontrola DNA extraktů se uskutečnila také elektroforeticky na agarózovém gelu v TAE pufu.

### 7.3.2. *Postup metody AFLP*

Testování primerů probíhalo při dřívějších studiích blízce příbuzných druhů rodu *Cardamine*; pro tuto studii jsme vybrali kombinaci primerů, která byla použita i pro fylogeografickou studii asijského druhu *Cardamine scutata* (Lihová *et al.*, in prep.).

Čerstvé listy vzorků (tab. 9) byly sebrány a usušeny v silikagelu. Genomová DNA byla extrahována použitím DNeasy Plant Mini Kitu (Qiagen 2004) (viz extrakce DNA). Pro AFLP byl následován všeobecný protokol popsáný v práci Vos *et al.* (1995) a protokol poskytnutý Applied Biosystems (Applied Biosystems 2005) s některými modifikacemi.

Dvojitá digesce DNA byla provedená použitím *EcoRI* and *MseI* enzymů při 37 °C po 3 h. Reakční směs (10 µl objem) obsahovala 5 U *EcoRI* (Fermentas), 2 U *MseI* (New England BioLabs), 2 µl 10× Tango pufru (Fermentas) a 5 µl DNA extraktu (500–1000 ng). Poté byla přidána ligační směs o objemu 5 µl na vzorek, reakce pobíhala při 16 °C po 12 hodin. Alikvotní podíl ligační směsi obsahoval 1 U T4 DNA ligázy (Fermentas), 1,5 µl T4 DNA ligázového pufru (obsahujícího ATP), a 1 µl od každého adaptorového páru (Applied Biosystems). Ligované DNA fragmenty byly naředěny 1 : 10 s TE pufrem (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA). Reakční směs preselektivní amplifikace (10 µl reakčního objemu) obsahovala 1 µl PCR pufru II (10×, Applied Biosystems), 0,6 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,2 µl dNTPs (10 mM každý), 0,5 µl od každého preselektivního primeru (Applied Biosystems), 0,04 µl AmpliTaq DNA polymerázy (5 U/µl, Applied Biosystems), a 2 µl naředěného restričně-ligačního produktu. PCR profil cyklu byl 72 °C (2 min), 30 cyklů při 94 °C (30 s), 56 °C (30 s), 72 °C (2 min), následováno 72 °C po 10 min, a inkubace při 4 °C (amplifikace probíhala v termocykleru Mastercycler ep Gradient S, Eppendorf). Produkty preselektivní amplifikace byly naředěny přibližně 1 : 15 s TE pufrem. Byly použity tři páry selektivních primerů: *EcoRI*-ATC-(6-FAM)/*MseI*-CAG, *EcoRI*-AAG-(VIC)/*MseI*-CTG, a *EcoRI*-AAG-

(PET)/*MseI*-CAC (tab. 8). *EcoRI* selektivní primery byly fluorescenčně značené na 5' konci. Reakční směs selektivní amplifikace (10 µl reakčního objemu) obsahovala 1 µl PCR Gold pufru (10×, Applied Biosystems), 1 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,2 µl dNTPs (10 mM každý), 0,5 µl od každého primeru (*EcoRI* v 1 µM, *MseI* v 5 µM), 0,08 µl AmpliTaq Gold DNA polymerázy (5 U/µl, Applied Biosystems), a 2 µl naředěného preselektivního PCR produktu. PCR profil cyklu byl 95 °C (10 min), 13 cyklů při 94 °C (30 s), 65–55,9 °C (každý cyklus klesající o 0,7 °C, 1 min), 72 °C (1 min), 23 cyklů při 94 °C (30 s), 56 °C (1 min), 72 °C (1 min), následován 72 °C po 10 min, a inkubace při 4 °C. Produkty amplifikace byly smíchány v poměru 1 : 1 : 1 a podány na analýzu fragmentů na sekvenátor konsorcia BITCET (ABI 3100 Avant), umístěného na Katedře molekulární biologie University Komenského v Bratislavě. Kalibrace velikosti byla provedena použitím velikosti interního standardu GeneScan – 500 LIZ<sup>®</sup> (Applied Biosystems).

Získaná AFLP data byla kalibrována s použitím softvéru GeneScan 3.7 (Applied Biosystems) a profily skórovány použitím softvéru Genographer 1.6.0 (dostupný na <http://hordeum.msu.montana.edu/genographer/>). Jen dobře skórovatelné a jednoznačné fragmenty kombinace tří primerů v rozpětí o velikosti 50–500 bp byly zaznamenány a kódovány jako prezence (1) nebo absence (0).

Pro odhad reprodukovatelnosti AFLP dat, DNA z 15 vzorků (10% z finálního souboru dat) byla dvakrát extrahována, a replikované vzorky byly analyzovány nezávisle. AFLP profily replikací byly skórovány a porovnány navzájem k výpočtu „error rate“ (Bonin *et al.* 2004).

Tab. 8: Použité kombinace AFLP primerů. Sekvence primerů:

\* *EcoRI* primer: 5'-GAC TGC GTA CCA ATT C xxx-3',

\*\* *MseI* primer: 5'-GAT GAG TCC TGA GTA A xxx-3'

<i>EcoRI</i> primer*		<i>MseI</i> primer**
Barva	<i>EcoRI</i> primer se značením	
modrá	-ATC-(6-FAM)	-CAG
zelená	-AAG-(VIC)	-CTG
červená	-AAG-(PET)	-CAC

Tab. 9: Přehled analyzovaných populací metodou AFLP. Populace pocházely z území, kde se nacházel jenom jeden z poddruhů („izolovaná populace“) a z území kontaktu obou poddruhů („kontaktní populace“).

Pořadí	Číslo základního pole = číslo lokality	Lokalita	Počet vzorků	Čísla vzorků	DNA ploidní stupeň	Typ populace
1	7568	Marhecký rybník - Záhorská nížina	6	1, 2, 3, 4, 5, 6	2x	izolovaná
2	7868	Železná Studnička - Malé Karpaty	6	7, 8, 9, 10, 11, 12	2x	izolovaná
3	5449	Velemín - Lounsko-labské středohoří	6	13, 14, 15, 16, 17, 18	2x	izolovaná
4	5351	Hradec - Verneřické středohoří	6	19, 20, 21, 22, 23, 24	2x	izolovaná
5	5748	Domoušice - Džbán	6	25, 26, 27, 28, 29, 30	2x	izolovaná
6	5847	Vrbice - Střední Poohří	6	31, 32, 33, 34, 35, 36	2x	izolovaná
7	5555	Velký Rečkov - Ralsko-bezděžská tabule	6	37, 38, 39, 40, 41, 42	2x	izolovaná
8	6244	Sytno - Plzeňská pahorkatina	6	43, 44, 45, 46, 47, 48	2x	kontaktní
9	6344	Hradišťany - Plzeňská pahorkatina	6	49, 50, 51, 52, 53, 54	2x	kontaktní
10	6250	Drátovna - Podbrdsko	6	55, 56, 57, 58, 59, 60	2x	kontaktní
11	6350	Višňová - Střední Povltaví	6	61, 62, 63, 64, 65, 66	2x	kontaktní
12	6450	Podholušice - Střední Povltaví	6	67, 68, 69, 70, 71, 72	2x	kontaktní
13	7251	Bohdalovice - Šumavsko-novohradské podhůří	6	73, 74, 75, 76, 77, 78	4x	izolovaná
14	7448	Mistlberg	6	79, 80, 81, 82, 83, 84	4x	izolovaná
15	6746	Pích - Plánický hřeben	6	85, 86, 87, 88, 89, 90	4x	izolovaná
16	7148	České Žleby - Šumava	6	91, 92, 93, 94, 95, 96	4x	izolovaná
17	7147	Mauth	6	97, 98, 99, 100, 101, 102	4x	izolovaná
18	6845A	Železná Ruda I - Šumava	6	103, 104, 105, 106, 107, 108	4x	izolovaná
19	7046	Filzwald	6	109, 110, 111, 112, 113, 114	4x	izolovaná
20	6245	Kozolupy - Plzeňská pahorkatina	6	115, 116, 117, 118, 119, 120	4x	kontaktní
21	6345	Stod - Plzeňská pahorkatina	6	121, 122, 123, 124, 125, 126	4x	kontaktní
22	6249	Sádek - Podbrdsko	6	127, 128, 129, 130, 131, 132	4x	kontaktní
23	6349	Láz - Podbrdsko	6	133, 134, 135, 136, 137, 138	4x	kontaktní
24	6449	Vacíkov - Brdy	6	139, 140, 141, 142, 143, 144	4x	kontaktní
25	6045	Lipí - Plzeňská pahorkatina	5	145, 146, 147, 148, 149	3x	kontaktní



## 7.4. Postup vyhodnocení AFLP dat

Z AFLP dat jsme sestavili tři matice. První matice obsahovala celý datový soubor, tj. diploidy, tetraploidy i triploidy. Další dvě matice zahrnovaly odděleně diploidy a tetraploidy. Vyhodnocování AFLP dat se uskutečnilo v následujících krocích:

(1) S pomocí programu FAMD (Fingerprint Analysis with Missing Data 1.1 Software, Schlüter & Harris 2006) jsme vypočítali průměrné počty fragmentů na jedince v celém analyzovaném materiálu a průměrné počty fragmentů na jedince odděleně pro diploidy, triploidy a tetraploidy a též odděleně pro každou populaci. K průměrným hodnotám jsme vypočítali koeficienty variace a směrodatné odchylky. Kromě toho jsme pro jednotlivé ploidní úrovně a populace zjistili počty polymorfních fragmentů, počty fixovaných fragmentů (přítomných ve všech jedincích dané skupiny), počty privátních fragmentů (přítomných jen u jedinců dané skupiny avšak ne nevyhnutelně u všech jedinců této skupiny) a počty fixovaných privátních fragmentů (přítomných jen u jedinců dané skupiny a zároveň u všech jedinců této skupiny).

(2) S pomocí programu FAMD a grafické části programu SAS (SAS Institute 2000) jsme zobrazili všechny analyzované jednice v ordinačním diagramu analýzy hlavních koordinát (Krzanowski 1990, Marhold & Suda 2002) s využitím Jaccardova koeficientu jako koeficientu podobnosti. Tato metoda umožňuje redukovat znakový prostor na několik málo dimenzí, v kterých je možné vizuálně sledovat vzájemné vztahy mezi sledovanými objekty.

(3) S pomocí programu PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2001) jsme sestrojili dendrogram metodou spojování nejbližších sousedů (neighbour-joining tree), s využitím koeficientu genetické vzdálenosti podle Nei & Li (1979). Dendrogram byl zakořeněný metodou “mid-point rooting”, interpretovali jsme však i nezakořeněný dendrogram.

(4) Jako komplementární metodu k metodě spojování nejbližších sousedů jsme vytvořili dendrogram i průměrovou shlukovací metodou (UPGMA, Everitt 1986) s využitím Jaccardova koeficientu jako koeficientu podobnosti a programu FAMD.

(5) S využitím programu AFLPdat (Ehrich 2006) jsme vypočítali Neiův koeficient diverzity (Nei 1987) podle vzorce  $D = n/(n - 1) * [1 - (\text{freq}(1)^2 + \text{freq}(0)^2)]$  (vypočítal se pro každý fragment a potom se vypočítala průměrná hodnota pro ploidní úroveň nebo pro populaci). S pomocí stejného programu jsme též vypočítali pro každou ploidní úroveň a populaci DW index, který vyjadřuje míru zastoupení vzácných fragmentů (vzácných ve

vztahu k celému datovému souboru). DW index jsme počítali podle Schönswettera a Tribsche (2005) s modifikacemi podle programu AFLPdat (Ehrich 2006, “rarity 1”).

(6) Optimální počet shluků populací resp. jedinců ve sledovaném materiálu jsme vypočítali Bayesovskou analýzou v programu BAPS 3.2 (Corander *et al.* 2006). Tato analýza hledá optimální počet shluků („populační strukturu“) studovaných jedinců, přičemž frekvence AFLP fragmentů a počet geneticky odlišných skupin používá jako náhodné proměnné. Na určení posteriorní genetické struktury se používá tzv. stochastická optimalizace. Na testování stability výsledků byla analýza desetkrát opakována, vždy s koeficientem  $K = 20$ . Koeficient  $K$  představuje maximální počet skupin.

(7) Rozložení genetické variability mezi polyploidními úrovněmi, mezi populacemi v rámci ploidních úrovní a v rámci populací byla zjišťována pomocí analýzy AMOVA (analysis of molecular variance) pomocí programu Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.* 2005). Soubor pro spuštění analýzy v programu Arlequin byl připravený v programu AFLPdat.

(8) Jako poslední krok jsme vypočítali Mantelův test (Legendre a Legendre 1998) s cílem zjištění míry korelace mezi páry genetických a geografických vzdáleností permutační procedurou, která je implementovaná v programu Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.* 2005). Genetické vzdálenosti byly vyjádřené  $F_{ST}$  hodnotami (vypočítanými v programu Arlequin 3.11). Geografické vzdálenosti byly vypočítané v programu AFLPdat z geografických koordinát. Soubor pro spuštění analýzy v programu Arlequin byl připravený v programu AFLPdat.

## 7.5. Výsledky

Metodou AFLP bylo analyzováno 149 jedinců *Cardamine amara* z 25 populací. Z vyhodnocování bylo 6 jedinců (79, 90, 99, 103, 121, 148) vyřazeno z důvodu nevyhovující kvality získaného profilu, dále se tedy pracovalo s daty 143 jedinců. 10 % jedinců bylo opakovaně analyzováno s cílem zjištění míry spolehlivosti analýz. Při porovnání výsledků opakovaných analýz bylo zjištěných 7,4 % chybně interpretovaných fragmentů. Na základě tohoto porovnání byly z dalších analýz některé fragmenty vyloučeny. Konečným výsledkem hodnocení fragmentů bylo, že kombinace tří primerů poskytly 148 dobře reprodukovatelných fragmentů s průměrným počtem 60,41 fragmentů na jedince. Ve všech barvách byly vyhodnocovány proužky v rozmezí cca 60 a 470 bp. V červené barvě bylo skórováno 61 proužků, v zelené 37 proužků a v modré 50 proužků.

Z celkového počtu bylo 128 proužků polymorfních (86,5 %) a 20 proužků monomorfních (13,5 %) (tab. 10). Nepřítomnost fixovaných privátních fragmentů v rámci ploidii naznačuje, že se v případě tetraploidů nejedná o alopolyloidní populace. Přítomnost privátních fragmentů ukazuje, že tetraploidní populace nejsou zcela recentního původu, ale že mohly vzniknout v období pleistocénu a zároveň množství privátních fragmentů naznačuje, že se nejedná o paleopolyloidní taxon.

Tab. 10: Přehled počtů fragmentů v rámci ploidních úrovní.

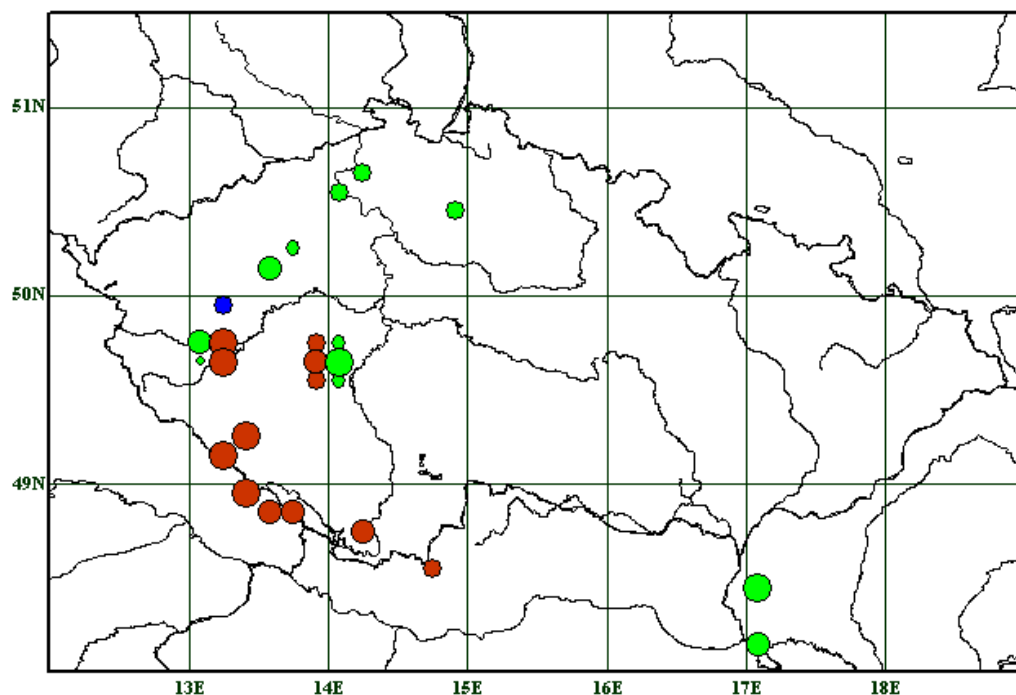
Ploidie	Průměrný počet fragmentů na jedince	Koeficient variance	Směrodatná odchylka	Počet polymorfních fragmentů	Počet monomorfních fragmentů	Počet privátních fragmentů	Počet fixovaných privátních fragmentů
všechny ploidie	60,41	57,71	7,59	128	20	-	-
2x	54,13	13,43	3,67	101	22	22	0
4x	67,19	19,89	4,46	91	34	23	0
3x	60,00	0,00	0,00	0	60	0	0

Na úrovni jednotlivých populací se privátní fixovaný fragment vyskytuje jen u populace 6244 (tab. 11). V diploidních populacích 6244, 6250 a 7568 se objevuje po třech privátních fragmentech a v populaci 5847 jsou dva privátní fragmenty. Zatímco tetraploidní populace obsahují maximálně jeden privátní fragment. V tabulce 11 jsou také uvedené hodnoty DW indexu pro jednotlivé populace, který vyjadřuje míru zastoupení vzácných fragmentů v populacích (fragmenty jsou vzácné ve vztahu k celému datovému souboru). Graficky je zastoupení vzácných fragmentů znázorněno na obrázku 53. Větší počet vzácných

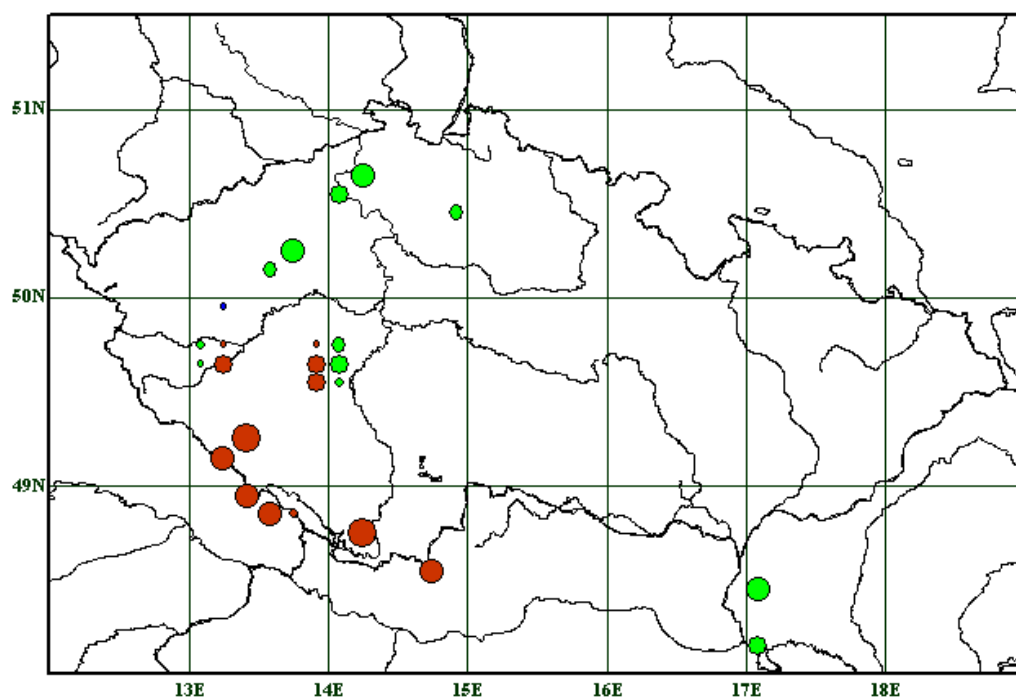
fragmentů indikuje starší a izolované populace, naopak jejich nižší počet by mohl indikovat populace, které zřejmě osídlily lokalitu recentně, jako např. populace 6344 a 6250 (tab. 11, obr. 53). Míra Neiovy genetické diverzity je u tetraploidních populací nižší na okrajích areálu, jak můžeme vidět u populací 6245, 6249 (tab. 11, obr. 54). Jinak v geografickém rozmístění populací s různou mírou genové diverzity není patrná žádná zákonitost. Nulová genová diverzita byla zaznamenána u triploidních jedinců, jelikož se zřejmě jedná o jeden klon.

Tab. 11: Přehled počtu fragmentů v rámci jednotlivých populací. DW vyjadřuje míru zastoupení vzácných fragmentů. Typ populace značí „izolované“ populace = č, „kontaktní“ populace = k.

Označení populace	Ploidní úroveň	Průměrný počet fragmentů na jedince	Koeficient variance	Směrodatná odchylka	Počet polymorfních fragmentů	% polymorfních fragmentů	Počet fixovaných fragmentů	% fixovaných fragmentů	Počet privátních fragmentů	Počet fixovaných privátních fragmentů	DW "rarity 1"	Genová diverzita (Nei 1978)	Typ populace
7568	2x	55,33	11,47	3,39	36	24	37	25	3	0	1,146	0,11	i
7868	2x	53,00	12,40	3,52	32	22	38	26	1	0	0,862	0,10	i
5449	2x	55,33	9,47	3,08	34	23	38	26	1	0	0,818	0,10	i
5351	2x	55,00	13,20	3,63	35	24	39	26	1	0	0,842	0,11	i
5748	2x	56,17	10,17	3,19	30	20	42	28	0	0	0,619	0,11	i
5847	2x	57,67	16,67	4,08	28	19	44	30	2	0	0,981	0,08	i
5555	2x	56,17	10,17	3,19	28	19	41	28	1	0	0,785	0,08	i
6244	2x	52,50	12,30	3,51	21	14	42	28	3	1	0,982	0,06	k
6344	2x	50,17	4,57	2,14	16	11	40	27	0	0	0,344	0,04	k
6250	2x	52,50	7,10	2,66	29	20	40	27	0	0	0,544	0,09	k
6350	2x	54,17	16,57	4,07	36	24	39	26	3	0	1,057	0,11	k
6450	2x	51,50	2,30	1,52	20	14	43	29	0	0	0,481	0,07	k
7251	4x	63,33	17,07	4,13	42	28	43	29	1	0	0,914	0,13	i
7448	4x	65,00	5,00	2,24	37	25	49	33	0	0	0,828	0,12	i
6746	4x	67,40	8,80	2,97	42	28	48	32	1	0	1,317	0,14	i
7148	4x	69,17	4,17	2,04	25	17	57	39	0	0	0,957	0,07	i
7147	4x	66,00	14,00	3,74	35	24	50	34	0	0	1,041	0,11	i
6845	4x	70,20	15,20	3,90	37	25	51	34	1	0	1,165	0,12	i
7046	4x	69,17	4,17	2,04	35	24	53	36	1	0	1,091	0,11	i
6245	4x	73,17	7,37	2,71	16	11	64	43	1	0	1,186	0,04	k
6345	4x	67,20	44,70	6,69	29	20	51	34	1	0	1,237	0,11	k
6249	4x	68,33	13,07	3,61	14	9	65	44	0	0	0,825	0,03	k
6349	4x	63,67	25,47	5,05	32	22	48	32	1	0	0,906	0,10	k
6449	4x	63,67	4,27	2,07	35	24	46	31	0	0	0,818	0,10	k
6045	3x	60,00	0,00	0,00	0	0	60	41	0	0	0,775	0,00	k

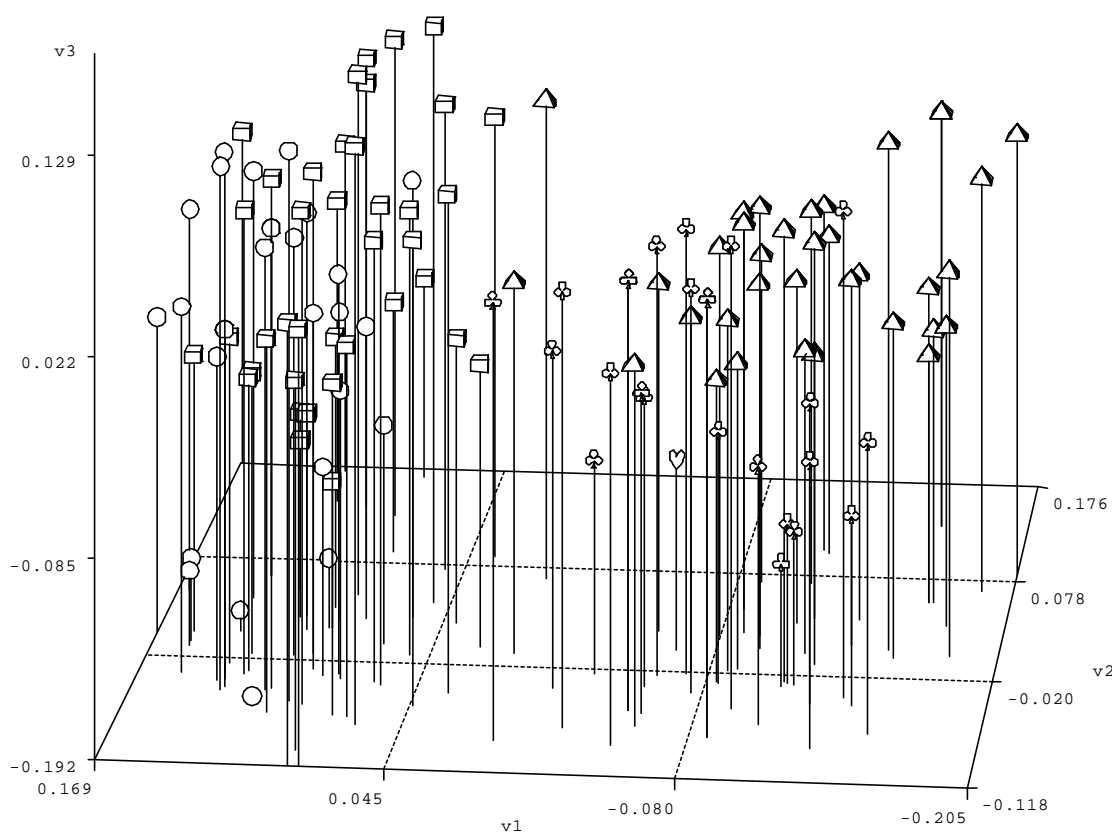


Obr. 53: Síťová mapa populací analyzovaných metodou AFLP zobrazující hodnoty DW indexu, který vyjadřuje míru zastoupení vzácných fragmentů v populacích. Ploidie jsou barevně odlišeny: 2x = zelená, 4x = oranžová, 3x = modrá. Velikost koleček udává velikost DW indexu. Konkrétní hodnoty jsou uvedeny v tabulce 11.



Obr. 54: Síťová mapa populací analyzovaných metodou AFLP zobrazující míru genetické diverzity. Ploidní stupně jsou barevně odlišeny: 2x = zelená, 4x = oranžová, 3x = modrá. Velikost koleček udává míru velikosti genové diverzity (podle Nei 1987). Konkrétní hodnoty jsou uvedeny v tabulce 11.

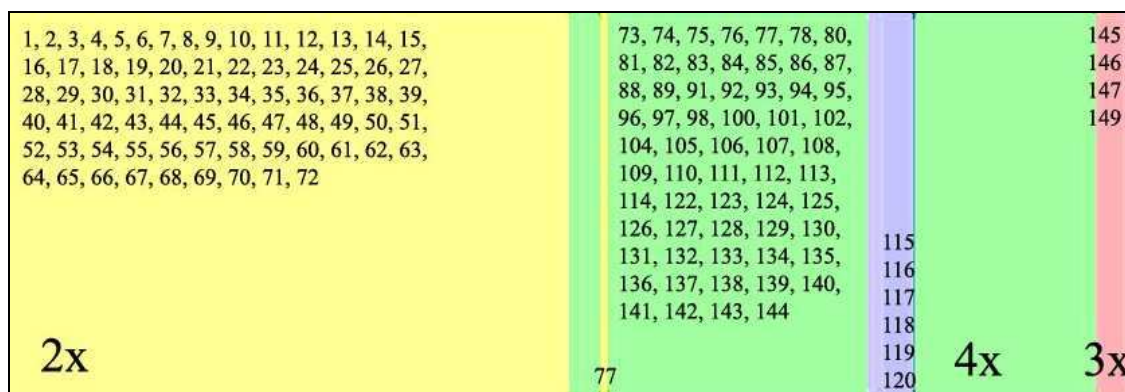
Na ordinačním grafu analýzy hlavních koordinát (PCoA, obr. 55) jsou zřetelně patrné dvě seskupení, oddělené podél první koordináty, mezi kterými se nachází několik málo intermediárních jedinců. Seskupení vlevo představuje diploidní jedince, seskupení napravo tetraploidní jedince. Do prostoru mezi těmito skupinami zasahuje několik málo tetraploidních jedinců. Na ordinačním grafu je patrné, že diploidní populace izolované i kontaktní jsou rovnoměrně promíšené. Tetraploidní kontaktní populace se častěji objevují v prostoru blíže k diploidním populacím, což by mohlo indikovat omezený genový tok od diploidů k tetraploidům (obr. 55). K genovému toku od diploidů k tetraploidům zřejmě dochází v oblasti sekundárního kontaktu diploidních a tetraploidních populací a podporuje ho zřejmě i existence triploidních jedinců.



Obr. 55: Analýza hlavních koordinát (PCoA) vypočítaná s použitím Jaccardova koeficientu. První osa vysvětluje 17,95%, druhá osa 6,04% a třetí osa 5,67% celkové variability. Jednotlivé symboly reprezentují populace z čistých a kontaktních oblastí: krychle – diploidní čisté populace, kolečko – diploidní kontaktní populace, pyramida – tetraploidní čisté populace, trojlístek – tetraploidní kontaktní populace, srdce – triploidní smíšená populace. Analýza byla spočtena programem FAMD, grafický výstup pochází z programu SAS.

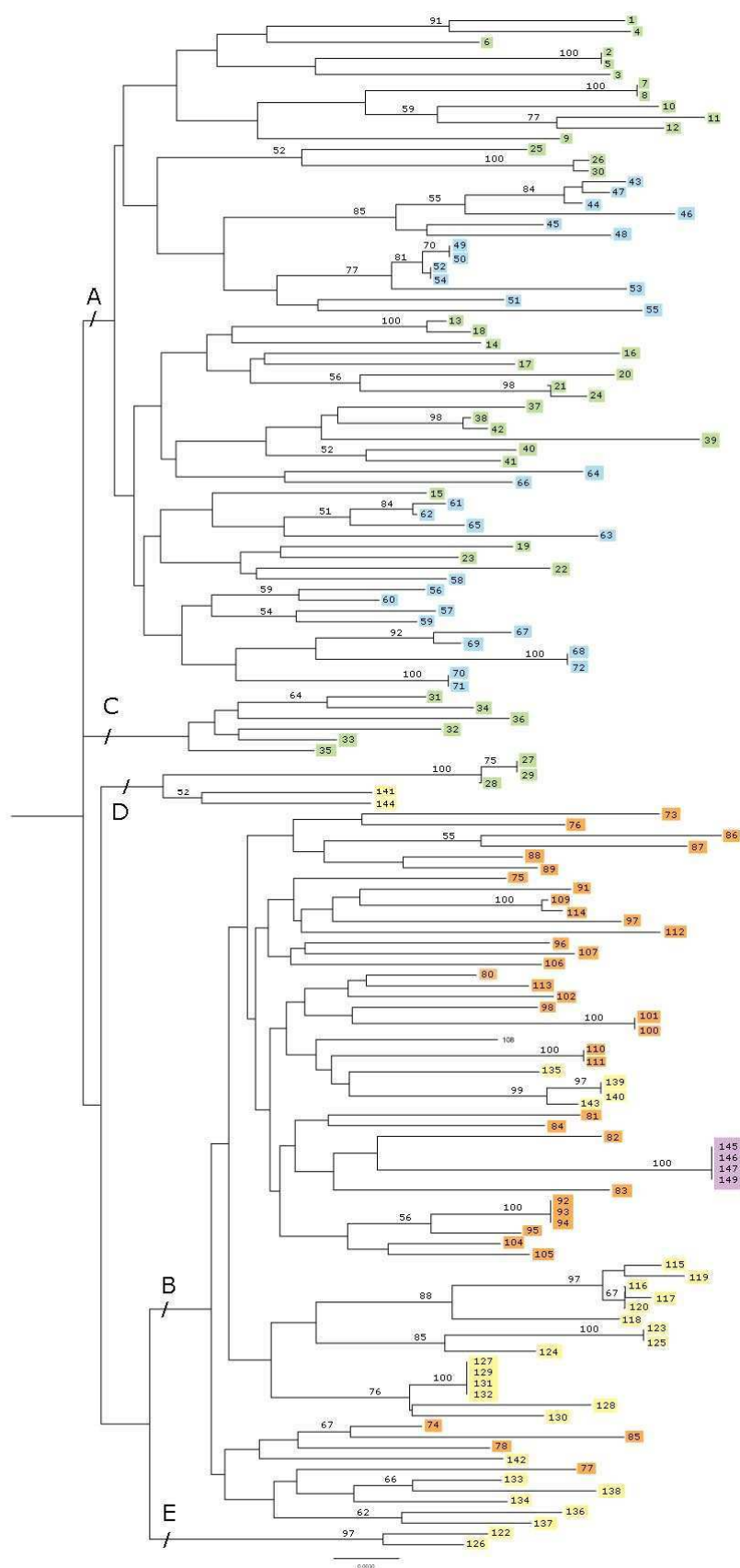
Při Bayesovské analýze počítané v programu BAPS 3.2, která byla 10krát zopakována, jsme pokaždé dostali stejné výsledky (obr. 56). Celkově se odlišili čtyři shluky, které jsou

patrné i na grafickém výstupu. (1) v levé části obrázku je shluk diploidních jedinců (pole žluté barvy), mezi který je zařazen tetraploidní jedinec (77), což ukazuje žlutý proužek v zeleném, jinak tetraploidním poli; (2) tetraploidi z populace 6245 Kozolupy (č. 115–120) tvoří osobitní shluk (modré pole), zatím co ostatní tetraploidi tvoří další shluk (zelené pole); (4) triploidní cytotyp tvoří čtvrtý shluk zobrazený červeným polem na pravém konci grafu.



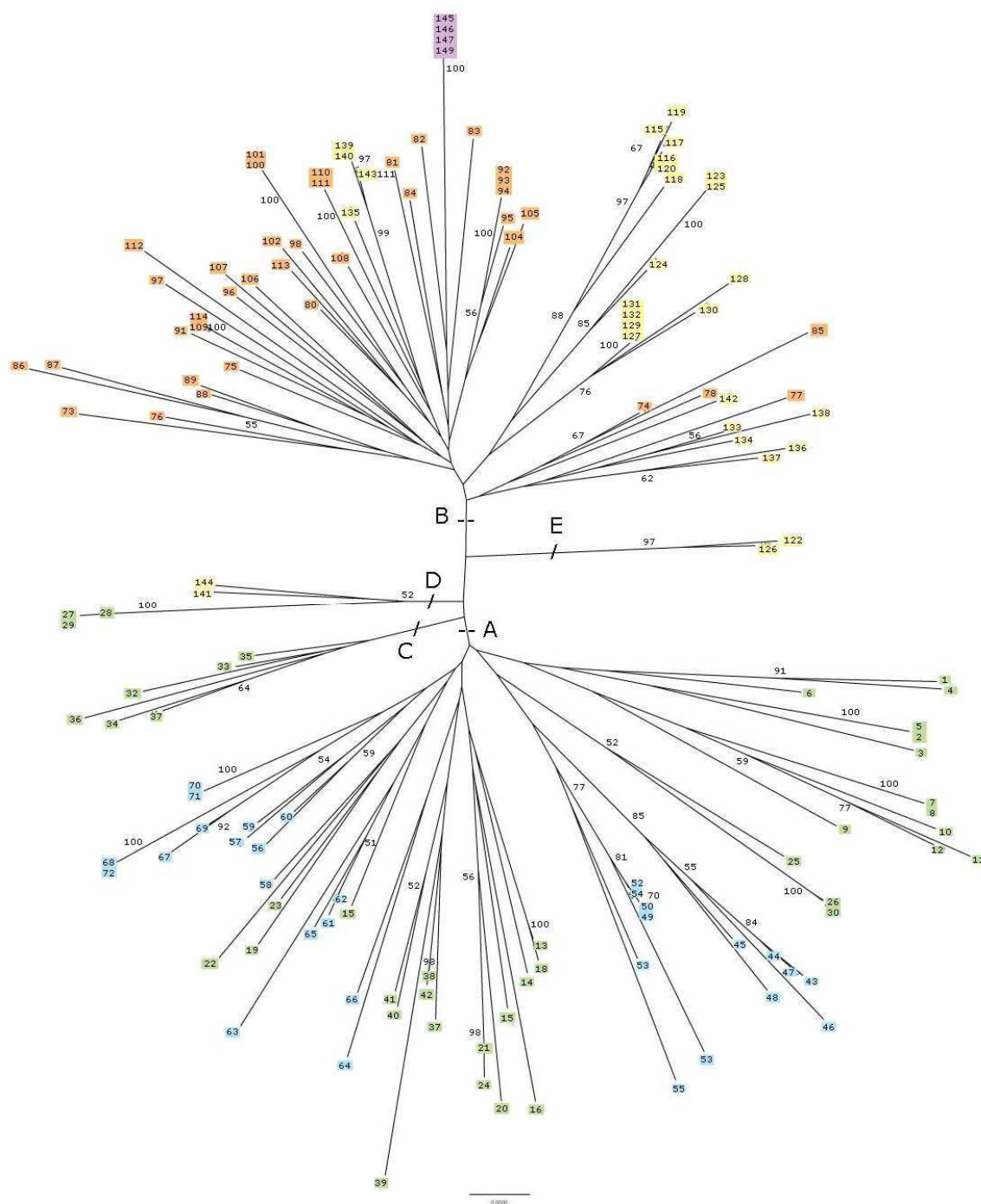
Obr. 56: Grafický výstup Bayesovské analýzy v programu BABS 3.2. Žlutá barva představuje diploidní populace, zelená tetraploidní populace a červená triploidní populaci. Tetraploidní jedinec 77 byl začleněn do diploidní skupiny, jak ukazuje úzký žlutý proužek mezi tetraploidy. Z tetraploidního cytotypu byla dále vyčleněna skupina jedinců (115–120), kterou znázorňuje modrý pruh.

Na dendrogramech vypočítaných analýzou spájení nejbližších sousedů (neighbour-joining tree, NJ) jsou patrné dvě hlavní větve, jedna (A) je složená výhradně z diploidů, ve druhé (B) jsou tetraploidi a triploidi (obr. 57, 58). Kromě těchto dvou větví jsou na dendrogramech ještě tři další větve, které jak je patrné na nezakořeněném dendrogramu, mají přechodný charakter. Rostliny z izolované populace 5847 (31–36) tvoří shluk (C), který je v pozici nejbližší ostatním diploidům. Tři diploidní jedinci (27, 28, 29) z izolované populace se shlukují spolu s tetraploidními jedinci 141 a 144 z kontaktní populace do dalšího shluku (D). Třetí přechodný shluk tvoří tetraploidní jedinci 122 a 126 opět z kontaktní populace (E). Statistická podpora jednotlivých větví (shluků) je nízká a tudíž jejich diferenciací není výrazná, což může být způsobeno genovým tokem mezi skupinami. Jedinci z diploidních čistých i kontaktních populací jsou promíšení. Ve dvou tetraploidních větvích, které jsou (jak je patrné na nezakořeněném dendrogramu) nejbližší diploidům, převažují jedinci z kontaktních populací, což indikuje genový tok od diploidního cytotypu k tetraploidnímu cytotypu. Tetraploidní jedinci ve větvích v přechodných pozicích jsou, jak už bylo uvedeno, rovněž z kontaktních populací. Stejně tedy jako u analýzy hlavních koordinát mají kontaktní tetraploidní populace na NJ dendrogramech blíže k diploidním populacím.



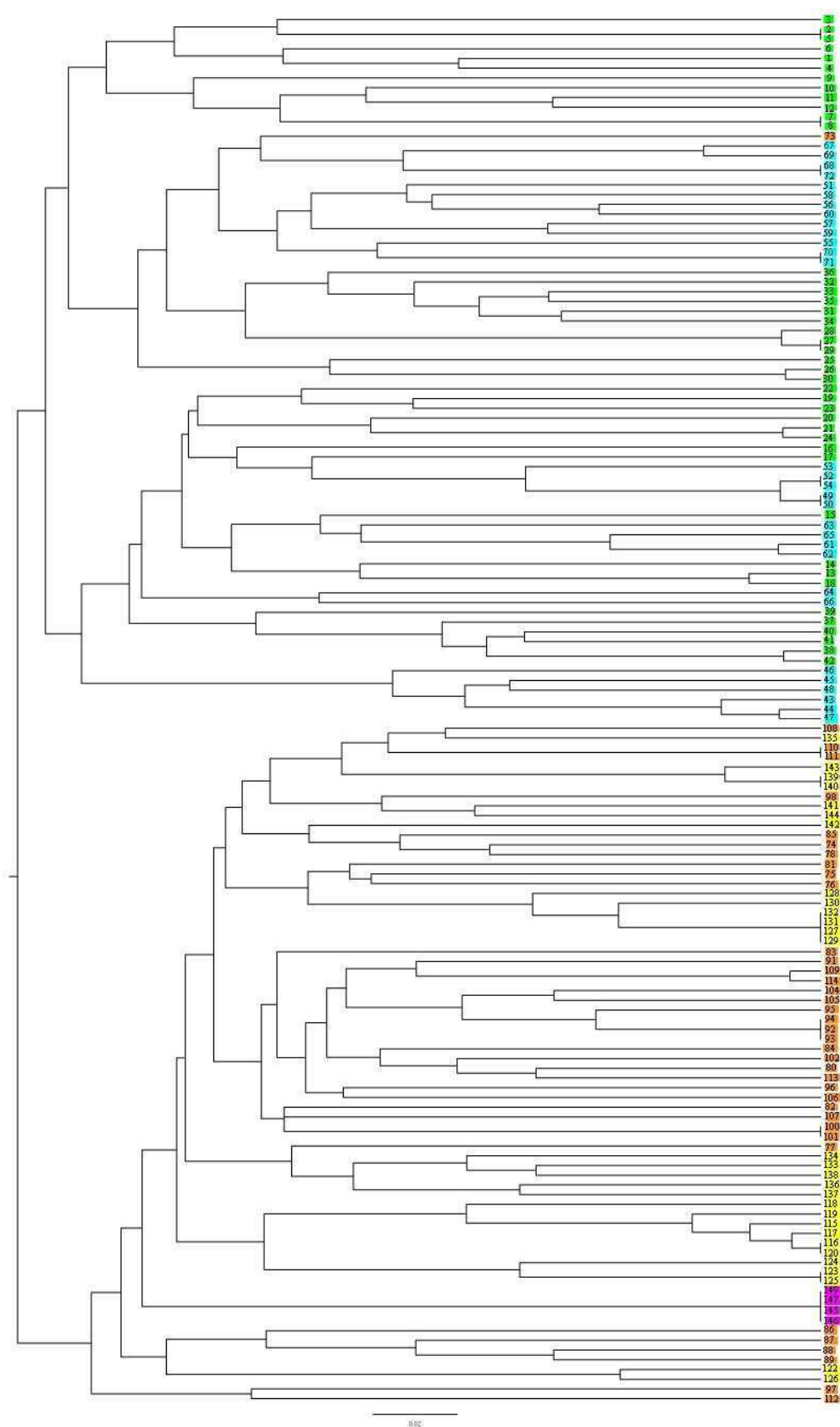
Obr. 57: Zakořeněný dendrogram metody nejbližšího souseda (neighbour-joining tree) získaný AFLP analýzou 143 vzorků *Cardamine amara*. Barevné značení populací: zelená – diploidní čisté populace, modrá – diploidní kontaktní populace, oranžová – tetraploidní čisté populace, žlutá – tetraploidní kontaktní populace, fialová – triploidní kontaktní populace. Hodnoty bootstrapu nad 50 % jsou zaznamenány v dendrogramu.





Obr. 58: Nezakořeněný dendrogram metody nejbližšího souseda (neighbour-joining tree) získaný AFLP analýzou 143 vzorků *Cardamine amara*. Barevné značení populací: zelená – diploidní čisté populace, modrá – diploidní kontaktní populace, oranžová – tetraploidní čisté populace, žlutá – tetraploidní kontaktní populace, fialová – triploidní kontaktní populace. Hodnoty bootstrapu nad 50 % jsou zaznamenány v dendrogramu.

Na dendrogramu sestrojeném metodou průměrné vzdálenosti (UPGMA) shlukové analýzy jsou viditelné dva shluky (obr. 59). Jeden shluk je složený z diploidních jedinců, mezi kterými je jeden tetraploidní jedinec (č. 73), druhý zahrnuje tetraploidy a triploidy.



Obr. 59: Dendrogram sestavený metodou průměrné vzdálenosti (UPGMA) shlukové analýzy získaný AFLP analýzou 143 vzorků *Cardamine amara*. Barevné značení populací: zelená – diploidní čisté populace, modrá – diploidní kontaktní populace, oranžová – tetraploidní čisté populace, žlutá – tetraploidní kontaktní populace, fialová – triploidní kontaktní populace.

Analýza molekulární variance ukázala, že 20,39 % z celkové variability připadá na genetickou diferenciaci mezi ploidními úrovněmi (tab. 12). 49,16 % z variability v celém souboru dat připadalo na variabilitu uvnitř populací. Při porovnání rozložení variability v rámci jednotlivých ploidí byly výsledky porovnatelné (tab. 13 a 14). Variabilita uvnitř populací u diploidního cytotypu byla 61,39 % a u tetraploidního cytotypu 63,73 % z celkové genetické variability populací dané ploidie. Výsledky se u těchto dvou ploidních úrovní nijak markantně neliší. Poddruhy nejsou tudíž v rozložení variability mezi a uvnitř populací výrazně odlišené.

Tab. 12: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) celého datového souboru (2x + 3x + 4x), d. f. = počet stupňů volnosti.

Zdroje variability	d.f.	Suma čtverců	Komponenty variability	% variability
mezi ploidními stupni	2	262,803	2,77236	20,39
mezi populacemi ploidních stupňů	22	674,613	4,14156	30,45
uvnitř populací	118	788,933	6,68588	49,16
celkem	142	1726,349	13,59980	

Tab. 13: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) diploidního cytotypu, d. f. = počet stupňů volnosti.

Zdroje variability	d.f.	Suma čtverců	Komponenty variability	% variability
mezi populacemi	11	343,847	4,1186	38,61
uvnitř populací	60	392,833	6,5472	61,39
celkem	71	736,681	10,6658	

Tab. 14: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) tetraploidního cytotypu, d. f. = počet stupňů volnosti

Zdroje variability	d.f.	Suma čtverců	Komponenty variability	% variability
mezi populacemi	11	330,766	4,0986	36,27
uvnitř populací	55	396,100	7,2018	63,73
celkem	66	726,866	11,3004	

Mantelův test jsem počítala odděleně pro kompletní materiál, dále pro diploidy a pro tetraploidy. Pomocí Mantelova testu nebyla zjištěna výraznější, resp. statisticky průkazná korelace mezi genetickými a geografickými vzdálenostmi v ani jednom z těchto testovaných datových souborů, což může být způsobeno efektivním tokem genů, který v rámci studovaného území nezávisí na geografické vzdálenosti (jedinci, kteří jsou si geneticky podobní se mohou dostat do poměrně velkých vzdáleností). Alternativní vysvětlení je ve velké heterogenitě populací. Korelační koeficient dosahoval hodnotu pro kompletní materiál 0,031 ( $P = 0,400$ ), pro diploidy 0,135 ( $P = 0,276$ ) a pro tetraploidy 0,214 ( $P = 0,078$ ). Tok genů může převažovat nad diferenciačními a izolačními mechanismy.

## 8. DISKUSE

Tato práce si kladla za cíl zjistit přesné rozšíření diploidního poddruhu *C. amara* subsp. *amara* a tetraploidního poddruhu *C. amara* subsp. *austriaca* v ČR. Dále prověřit možnost existence smíšených populací s více cytotypy a v tomto případě i možnost hybridizace mezi jedinci těchto smíšených populací. Zajímalo nás též zda je možné, na základě molekulárních dat (AFLP) usuzovat jednorázový nebo polytopický vznik tetraploidního poddruhu *C. amara* subsp. *austriaca*.

Morfologicky jsou si obě subspecie velice podobné, liší se jen minimálně v kvantitativních znacích (např.: počet listů, počet lístků na listech a velikost některých květních částí), které se však značně překrývají. Jediným spolehlivým morfologickým znakem je velikost pylových zrn (Marhold 1999b, Marhold *et al.* 2002, Lihová & Marhold 2003). Měření pylových zrn je však zdoluhavé a časově náročné a tato metoda se nedá využít na detailní analýzu zastoupení diploidů a tetraploidů v populacích. Proto byla pro určení poddruhů použita průtoková cytometrie. Díky této metodě bylo možné jedince spolehlivě určit a bylo možné rychle analyzovat velké množství materiálu za relativně krátkou dobu (Doležel 1997).

V rámci této práce bylo zmapováno 358 základních polí sítě středoevropského mapování (Niklfeld 1971, Slavík 1985), přičemž jedinci *C. amara* byli nalezeni ve 302 polích. V 56 polích nebyly poddruhy *C. amara* nalezeny, což může být následkem vysokého podílu zastavených oblastí a polí a též značně znečištěnými vodními toky. Přítomnost druhu *C. amara* v těchto základních polích sice není možné úplně vyloučit, druh zde ale určitě nebude častý.

Průtokovou cytometrií byl stanoven DNA ploidní stupeň u 3266 jedinců z 299 lokalit. Tetraploidní cytotyp převažoval a byl zastoupen 1920 jedinci na 191 lokalitách. Z celkového počtu lokalit bylo 17 populací smíšených. Smíšené populace se nacházejí v kontaktních zónách obou cytotypů. Na třech z těchto smíšených lokalit byl dokonce nalezen triploidní cytotyp. Cytometrické analýzy byly zároveň podloženy přímým počítáním chromozómů několika jedinců od všech ploidí.

## Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* a *C. amara* subsp. *austriaca* v České republice

Podrobné rozšíření těchto dvou poddruhů v ČR nebylo známo. Výskyt tetraploidních jedinců v jižní části Čech byl již zaznamenán (Marhold 1999a, 1999b), jednalo se však jen o nastínění celkového rozšíření na území ČR. Tato cytogeografická studie ukázala, že hranice rozšíření obou cytotypů se značně prolínají a výskyt smíšených populací s více cytotypy v kontaktní oblasti není ojedinělým jevem, což dokazuje 17 nalezených smíšených populací. Linie kontaktní oblasti probíhá územím České republiky od Tepelských a Doupovských hor a Plzeňské pahorkatiny přes oblast středních a jižních Čech až po Železné hory, Žďárské vrchy a Moravské podhůří Vysočiny.

Areál tetraploidního poddruhu s centrem výskytu v oblasti východních Alp se v ČR rozkládá od Šumavy a Novohradských hor, Českého a Slavkovského lesa, přes Budějovickou a Třeboňskou pánev na Českomoravskou vrchovinu, do Středního Povltaví, Plzeňskou pahorkatinu, Krivoklátsko, Brdy, Žďárské a Jihlavské vrchy a Železné hory. Ojedinělý výskyt byl zaznamenán v Libochovické tabuli a Dolním Povltaví, kam mohl být tetraploid pravděpodobně zavlečen v rámci povodní. Přílehlé oblasti těchto lokalit jsou totiž zcela diploidní. Populace tetraploida byly ale nalezeny i v Krušných horách a je pravděpodobné, že odtud areál tetraploida zasahuje až do příhraniční oblasti Německa a navazuje na německou část souvislého areálu tohoto poddruhu. Jeho detailní rozšíření v Německu však doposud není známo (Marhold 1999b).

Výskyt tetraploidního cytotypu z Rakouska je udáván od nízkých poloh na úrovni Dunaje až k vyšším nadmořským výškám, zatímco diploid se nalézá spíše v nižších a středních polohách (Marhold & Valachovič 1998, Marhold *et al.* 2002). Tato široká ekologická amplituda poskytuje tetraploidu značnou výhodu. V rámci této práce se rozložení cytotypů na základě nadmořské výšky ve studovaném území potvrdilo. Tetraploidi se vyskytovali od 230–1151 m n. m. a diploidi v rozmezí 195–654 m n. m. V oblastech, kde se tetraploidní poddruh nevyskytuje, zasahují populace diploidního poddruhu *C. amara* subsp. *amara* do vyšších nadmořských výšek (např. v Karpatech, Marhold 1995). Podobný pattern rozšíření diploidů a tetraploidů byl zjištěn i v kontaktních zónách ve Švýcarsku (Marhold 1999b).

Diploidní poddruh *C. amara* subsp. *amara* je rozšířen na téměř celém území ČR mimo oblasti na jihu Čech (např.: Šumava, Novohradské hory a Jihlavské vrchy), kde se

vyskytuje pouze tetraploidní cytotyp. Diploid se na našem území vyskytuje převážně v nižších nadmořských výškách.

### ***Cardamine amara* subsp. *austriaca* – prvek alpské migrace v České republice**

*Cardamine amara* subsp. *austriaca* je v Čechách jedním ze zástupců alpské migrace. Rozšíření tohoto tetraploida značně souvisí s pleistocénním zaledněním a to zejména v oblasti východních Alp (Marhold 1999a, 1999b). Po ústupu pevninského ledovce rostliny mohly kolonizovat nové oblasti a také v Alpách se zmenšujícím se horským ledovcem se postupně uvolňoval nový prostor. Obecné rozšíření alpských migrantů v ČR uvádí ve své práci Hendrych (1985). K tomuto alpskému elementu v Čechách můžeme vztáhnout řadu druhů české květeny. Podobné rozšíření jako u studovaného tetraploida *C. amara* můžeme nalézt například u druhů *Soldanella montana*, *Willemetia stipitata*, *Duschekia alnobetula*, *Salix appendiculata* a *Gentiana pannonica*. Migranti se shodují v těžišti rozšíření na Šumavě a Novohradských horách. Další výskyt severním směrem už mají jednotliví migranti odlišný dle různých faktorů, mezi které jistě patří jejich ekologické nároky a způsob šíření.

*Soldanella montana* je druhem převážně rašelinných luk a lesních prameništ'. V jižní části Čech se vyskytuje hojně v oreofytiku i mezofytiku. Je možné ji tedy nalézt v poměrně širokém rozpětí nadmořských výšek od 400 v jihočeských pánvích do cca 1360 m n. m. na Plechém. Tato ekologická amplituda je velmi podobná i u *Cardamine amara* subsp. *austriaca*. Severní hranici rozšíření dřívátky tvoří Brdy a Hlinsko (Štěpán 1970, Kovanda 2003), v těchto oblastech byl nalezen i studovaný tetraploid.

*Willemetia stipitata* je druhem vlhkých až rašelinných luk a rašelinných svahových prameništ'. Hojně se vyskytuje v jižní části Čech v oreofytiku ale také řidčeji v mezofytiku. Lze ji nalézt opět v poměrně širokém výškovém rozpětí a to od 420 m n. m. u Třeboně až po 1300 m n. m. na Plechém. Nejsevernější lokalitu plešky můžeme nalézt ve Žďárských vrších (Kirschnerová 2004), ve kterých se opět vyskytuje i tetraploid *C. amara*.

*Gentiana pannonica* se vyskytuje převážně na horských pastvinách a loukách, je druhem vázaným především na vyšší polohy. V Alpách roste převážně ve výškách přes 1200 m n. m. V Čechách se hojně vyskytuje již od 900 m n. m., přičemž nejnižší lokalita je ve výšce 695 m n. m. u Křemelné nedaleko Velkého Boru (Procházka 1972). Na Šumavu zřejmě pronikla v posledním glaciálu, kdy byla tato území odlesněná a dovolovala šíření tohoto druhu (Procházka 1961, Kirschner & Kirschnerová 2000).

Posledním zde podrobněji zmíněným druhem je *Salix appendiculata*, který se nalézá převážně na vlhkých sutích a podél horských potoků. V Čechách se vyskytuje pouze v oblasti Šumavy a Novohradských hor. Jedná se ekologicky náročný druh vyskytující se pouze v horských oblastech, který je náročný na půdní i vzdušnou vlhkost (Chmelař & Koblížek 2003).

U všech výše zmíněných zástupců alpské migrace na našem území probíhá severní hranice jejich celkového rozšíření. Druhy *Salix appendiculata* a *Gentiana pannonica* jsou vázané na vyšší polohy, tudíž je jejich areál v ČR omezen horské oblasti jižních Čech. *Soldanella montana* a *Willemetia stipitata* mají s tetraploidním cytotypem *C. amara* podobné rozšíření a zároveň se shodují i v podobně širokém výškovém rozpětí výskytu a rostou ve vlhčích prostředích. Všechny zmíněné druhy alpské migrace se rozšiřují anemochorně, zatímco *Cardamine amara* se šíří jak anemochorně tak i hydrochorně. Snadno se může tedy šířit podél vodních toků a důležitou roli v expanzi areálu jistě hrály i lokální povodně. Větší možnosti ve způsobu šíření u *Cardamine amara* mohly způsobit větší areál tohoto migranta oproti ostatním druhům alpské migrace. Nezanedbatelnou roli zajisté hraje vegetativní rozmnožování, které u *C. amara* představuje častý způsob rozmnožování a šíření, jak je možné pozorovat na podrobně studovaných smíšených lokalitách.

### **Smíšené populace diploidů a tetraploidů a existence triploidních rostlin**

Triploidní jedinci u skupiny *Cardamine amara* nebyly v této skupině téměř známy. Jediný záznam o triploidním jedinci ( $2n = 3x = 24$ ) byl publikován v práci Spasskaya (1979) a pochází z centrálního Ruska. Tudíž vyvstala otázka o možnosti jejich případného vzniku a to zejména v kontaktních zónách diploidního a tetraploidního cytotypu. V rámci studií (Marhold 1999b, Marhold & Lihová 2006, Lihová & Marhold 2006) nebyly žádní jedinci triploidního cytotypu ve skupině *Cardamine amara* zaznamenáni, takže byla existence triploidů považována za zcela ojedinělou. Jejich výskyt byl nalezen jen díky podrobnému cytometrickému průzkumu v rámci této studie. V průběhu analýz bylo zjištěno 83 triploidních jedinců, což činí 2,5 % z celého analyzovaného materiálu. Tento počet triploidních jedinců není zanedbatelný a ukazuje, že výskyt triploidního cytotypu v kontaktní zóně není ojedinělým jevem. Celkem byli triploidní jedinci nalezeni na čtyřech lokalitách v kontaktní zóně mezi diploidními a tetraploidními populacemi. Jedna lokalita byla čistě triploidní, ostatní tři byly cytotypově smíšené.



Na základě výsledků průtokové cytometrie můžeme diskutovat možný vznik triploidního cytotypu. Triploidní jedinci mohli vzniknout hybridizací mezi diploidní *C. amara* subsp. *amara* a tetraploidní *C. amara* subsp. *austriaca* nebo pomocí neredukované gamety z *Cardamine amara* subsp. *amara*. Dále zde vyvstává otázka taxonomického zařazení analyzovaných triploidních rostlin. Pokud triploidi vznikli hybridizací diploida a tetraploida, pak se jedná o křížence *C. amara* subsp. *amara* × *C. amara* subsp. *austriaca*, pokud ale pocházejí z opylení diploida neredukovanou gametou pak patří k *C. amara* subsp. *amara*. V případě triploidních jedinců analyzovaných metodou AFLP v této studii se zřejmě jedná o hybrida diploidního a tetraploidního poddruhu (viz dále).

V rámci této studie byly provedená podrobná studie pěti vybraných smíšených lokalit. Ukázalo se, že rozmístění cytotypů se liší na každé lokalitě, což může být dáno rozdílnými podmínkami na jednotlivých lokalitách. Rostliny se vyskytovaly převážně v liniové seskupení podél vodních toků (lokality 6045, 6543 a 6353). Na lokalitě 6042 Pístov se populace nalézají jak liniově podél potoka na severní straně od silnice, tak ale zaujímá i prostor hájku těsně vedle potoka (obr. 26). U Pístova byla nalezena populace s diploidy a tetraploidy. Oba cytotypy mají na této lokalitě tendenci tvořit téměř oddělené shluky, přičemž tetraploidi se vyskytují podél potoka severně i jižně silnice, zatímco diploidi se shlukují pouze jižně od silnice v oblasti hájku. Rozdílný charakter lokality můžeme pozorovat u Hliňánek (6254), kde jsou jedinci obou cytotypů rozmístěni v liniích v prostoru hájového porostu.

Na lokalitě 6045 Lipí byly v při prvním sběru zaznamenány všechny tři cytotypy. Při podrobné studii nebyl tetraploidní cytotyp zaznamenán, což mohlo být způsobeno sběrem analyzovaných rostlin v tří metrové vzdálenosti a mohl být takto při sběru vynechán. Populace na této lokalitě se vyskytuje liniově podél dvou potoků, které se posléze spojují v jeden. Diploidní a triploidní cytotypy netvoří dvě oddělené skupiny (obr. 35), ale ploidy jsou střídavě rozmístěny. Triploidní jedinci viditelně pronikají na lokalitu podél jižně přitékajícího potoka, kde převažují. Po spojení obou toků převažuje diploidní cytotyp.

Na lokalitách 6254 Hliňánky a 6361 Cikháj byli zaznamenáni pouze diploidní a triploidní jedinci. Při základním sběru 10 rostlin na lokalitě u obou těchto smíšených lokalit převládal triploidní cytotyp (na lokalitě Hliňánky 9 triploidních a 1 diploidní rostlina, na lokalitě Cikháj 7 rostlin z deseti triploidních), což vedlo k podrobnému prozkoumání jedné z těchto lokalit. Po následné podrobné studii lokality Hliňánky bylo zaznamenáno 34 triploidních rostlin z 80 analyzovaných. Cytotypy na lokalitě mají tendenci tvořit shluky, ale

obě ploidie nejsou zcela oddělené. V diploidním shluku se vyskytují triploidi a naopak v triploidní skupině zase diploidi.

Na čistě triploidní lokalitě (6263 Třemošná) se dá předpokládat vznik triploida v některé blízké lokalitě ve směru proti proudu potoka, v jehož řečišti byla tato lokalita nalezena, a následné zanesení triploidního jedince na nalezenou lokalitu.

Výskyt všech ploidí na lokalitě 6045 ukazuje na možnost vzniku triploidních jedinců hybridizací mezi *C. amara* subsp. *amara* a *C. amara* subsp. *austriaca*. Což potvrzuje i zařazení triploida mezi tetraploidy při genetické analýze s využitím AFLP.

Absence tetraploidního cytotypu vede zase ke zvážení možnosti vzniku triploidů na těchto lokalitách díky neredukované gametě. Zůstává zde však stále otázka, proč nebyl na těchto lokalitách tetraploidní cytotyp nalezen a zda se na těchto lokalitách dříve také nenalézali tetraploidní jedinci. Je možné, že vlivem čistě stochastického faktoru mohlo dojít k postupnému vymizení tetraploidního cytotypu z lokality.

Dále vyvstává otázka schopnosti sexuálního rozmnožování triploidů. Zda jsou triploidní jedinci schopni reprodukce, nebo zda se rozmnožují jen vegetativně pomocí výběžků. V pracích Urbanské a jejích spolupracovníků (Urbanska 1987, Urbanska *et al.* 1997) byli studováni triploidní hybridní kříženci mezi diploidem *C. pratensis* (= *C. rivularis* auct.) a diploidem *C. amara* ve Švýcarsku, kteří jsou schopni se reprodukovat. Kříženec *C. ×insueta* vznikl splynutím neredukované gamety *C. pratensis* a normální redukované gamety *C. amara*. U tohoto triploidního hybrida byla pozorována heterogamie. Meióza byla nepravidelná a převažovaly sterilní pylová zrna a zárodeční vaky, rostliny však produkovaly také funkční samčí a samičí gamety. Gamety měly buď 8 chromozómů pocházejících z *C. amara*, anebo 16 chromozómů pocházejících z *C. amara* a *C. pratensis*.

V průběhu této studie byly pěstovány rostliny z populace 6254 Hlíňánky. I triploidní rostliny z této populace byly plodné a vytvořily semena (viz obr. 39). Klíčivost semen nebyla v rámci této práce studována. *C. amara* v jižních a středních Čechách představuje vhodný model pro další studium genového toku mezi diploidy a tetraploidy prostřednictvím triploidů. Pozornost bude zapotřebí v budoucnosti věnovat klíčivosti semen triploidních rostlin (pokud je bude možné opětovně získat) stejně jako míry fertility pylových zrn triploidních jedinců.

Podle provedených prostorových studií lokalit (6254 Hlíňánky a 6045 Lipí) jsou triploidní jedinci na lokalitách značně početní a jsou od sebe vzdáleni desítky metrů, což vede k závěru, že triploidi jsou v rámci populací plně konkurenceschopní. Nemusí se rozmnožovat pouze vegetativně, ale pravděpodobně jsou schopni alespoň v omezené míře

pohlavního rozmnožování. Kolem vzniku triploidního cytotypu a jejich reprodukci tedy stále zůstává několik otázek, které si zaslouží další podrobné studium.

Všechny smíšené populace (kromě populace 5452) pochází z území, kde dochází ke kontaktu diploidů a tetraploidů. Populace 5452 se nachází v izolované diploidní oblasti a výskyt tetraploidního jedince na lokalitě by mohl být vysvětlen jeho zanesením v rámci povodní. Pokud v kontaktních oblastech dochází k genovému toku a tudíž k hybridizaci mezi ploidními úrovněmi, mohli bychom spekulovat, zda přece jenom nemohou tetraploidi ojediněle vznikat *de novo* ve smíšených populacích diploidů a triploidů. V budoucnosti by nám mohly napovědět detailní analýzy smíšených populací metodou AFLP.

### **Původ polyploidních populací *C. amara* subsp. *austriaca* v České republice**

Na řešení otázky původu polyploidních populací *C. amara* v České republice, zda vznikly polytopicky nebo jednorázově, byla použita molekulární metoda AFLP. Metoda se osvědčila v početných studiích zástupců rodu *Cardamine* (Lihová *et al.* 2000, 2003, 2004a, 2004b, Marhold *et al.* 2004, Perný *et al.* 2005a, Kučera *et al.* 2008) i v jiných rodech. Touto metodou bylo celkem analyzováno 149 jedinců z 25 populací. Populace pro analýzu byly vybrány z oblastí izolovaných a kontaktních. Celkem bylo hodnoceno 148 dobře reprodukovatelných fragmentů. Z celkového počtu bylo 128 fragmentů polymorfních a 20 monomorfních. Přítomnost privátních fragmentů (22 pro diploidy a 23 pro tetraploidy) poukazuje na starší původ tetraploidních populací. Tetraploidní cytotyp tedy není recentní, ale nejedná se ani o paleopolyploida. Tetraploidi mohli vzniknout v období pleistocénu, jak uváděno v dřívějších studiích (Marhold 1999a, 1999b, Lihová & Marhold 2006). V rámci ploidních úrovní nebyly zaznamenány žádné fixované privátní fragmenty, což ukazuje, že *C. amara* není alopolyloid, ale že vznikl autopolyploidizací z *C. amara* subsp. *amara* (Marhold 1999b).

Počty polymorfních fragmentů na úrovni jednotlivých populací byly od 16 po 36 v diploidních populacích a od 14 po 42 v tetraploidních populacích. Triploidní populace z lokality 6045 neměla žádné polymorfní fragmenty z čehož se dá usuzovat, že se jedná o jeden klon. Získané hodnoty DW indexu, který udává míru zastoupení vzácných fragmentů, indikují stáří a izolovanost populací. Nejnižší hodnoty byly u populací 6344 (0,344) a 6450 (0,481) a poukazují na jejich recentní osídlení lokalit. Nejvyšší hodnoty dosahovala populace 6746 s hodnotou DW indexu 1,317.

Neiova genetická diverzita byla u tetraploidních populací na okraji areálu (6245, 6249) nižší, ale jinak nebyla v míře diverzity v geografickém rozmístění populací žádná zákonitost. U triploidní populace nebyla zaznamenána žádná genetická diverzita, což opět poukazuje, že se jedná o klon.

Výsledný graf PCoA analýzy od sebe oddělil skupiny diploidních a tetraploidních jedinců. Diploidní populace z kontaktních a izolovaných oblastí jsou rovnoměrně promíšené. Tetraploidi z kontaktní oblasti se objevují v prostoru blíž k diploidům, což by mohlo indikovat omezený ale existující genový tok od diploidů k tetraploidům. Triploidní populace se nachází v prostoru kontaktních a izolovaných tetraploidních populací. Pravděpodobně díky jejich existenci dochází k sekundárnímu kontaktu a genovému toku mezi ploidními úrovněmi.

Bayesova analýza odlišila jedince do čtyř shluků. Diploidní jedinci měli ve svém shluku zařazeného jednoho tetraploida. Další shluk byl tvořen oddělenou triploidní populací. Tetraploidi tvořily shluk v němž byla odděleně vyčleněná populace 6245 Kozolupy.

Dendrogram (neighbour-joining tree, NJ) od sebe oddělil větev diploidů a větev, která kombinovala tetraploidy a triploidy. V diploidní větvi byli jedinci z izolovaných a kontaktních populací rovnoměrně promíšení, podobně jako u analýzy PCoA. V přechodných pozicích se nacházely další tři větve (shluky), ve kterých byla zařazena skupina diploidů (27–29, 36–36), a dále tetraploidi z kontaktních populací. V tetraploidní větvi byli tetraploidi z kontaktních oblastí zařazení blíže k diploidní větvi než tetraploidi z izolovaných oblastí. Toto seskupení dendrogramu opět indikuje, že dochází k sekundárnímu kontaktu mezi ploidními a k byt' omezenému toku genů od diploidů k tetraploidům. Zařazení triploidní populace do tetraploidní větve podporuje vznik triploidního cytotypu hybridizací mezi diploidy a tetraploidy. NJ strom je sice jenom slabě statisticky podpořený, ale skutečnost, že se rozdělení na dva základní shluky (diploidní, triploidní+tetraploidní) ukázalo i ve výsledcích shlukové analýzy (UPGMA) potvrzuje, že jde o odraz skutečné struktury v datech a ne jenom o artefakt metody.

Na základě výsledků analýzy molekulární variance byl podíl genetické variability mezi ploidními úrovněmi 20,39 %, přičemž téměř polovina celkové variability byla uvnitř populací (49,16 %). Ve srovnání s vnitropopulační variabilitou diploidní *Cardamine alpina* (4,37 %, AFLP data, Lihová *et al.* 2008) a druhů diploidní skupiny *C. maritima* (2,35–3,59 %, AFLP data, Kučera *et al.* 2008) je to vysoká hodnota. Rozdíl je zřejmě způsobený vysokým podílem autogamie u *C. alpina* a směsí autogamie a alogamie u druhů skupiny *C.*

*maritima*. Při porovnání variability v rámci jednotlivých plodných ploidí *C. amara* se výsledky nijak výrazně nelišily.

Na základě výsledků molekulární analýzy AFLP můžeme tedy usuzovat, že tetraploidní cytotyp vznikl na studovaném území jen jednou.

V kontaktní zóně pravděpodobně dochází díky triploidům genovému toku od diploidů k tetraploidům, důkazem čeho je i výskyt triploidů. Triploidní jedinci jsou na smíšených lokalitách zastoupeni mnoha rostlinami, které zde zřejmě díky vegetativnímu způsobu rozmnožování přetrvávají po dlouhou dobu. Triploidi mohou pravděpodobně produkovat diploidní a tetraploidní pylová zrna a je jen otázkou náhody, kdy dojde k opylení některého tetraploidního a diploidního jedince pylovými zrny triploidního původu. Jelikož u triploidního cytotypu se nejedná o ojedinělý výskyt, tak je jen otázkou času, kdy k těmto událostem dojde.

## 9. ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce bylo získáno podrobné rozšíření *Cardamine amara* v České republice a příhraničních oblastech. Na základě determinace DNA ploidní úrovně byla zjištěna distribuce cytotypů na území ČR a byla odhalena kontaktní zóna, ve které se diploidní a tetraploidní cytotyp značně prolíná. Výsledky této práce jsou následující:

- 1) V jižní části ČR byl potvrzen výskyt dvou poddruhů *Cardamine amara*, diploidního *C. amara* subsp. *amara* a tetraploidního *C. amara* subsp. *austriaca*. V rámci této studie bylo determinováno 302 populací, z čehož bylo 176 tetraploidních a 105 diploidních. Severní hranice výskytu *C. amara* subsp. *austriaca* probíhá od Tepelských a Doupovských hor a Plzeňské pahorkatiny přes oblast středních a jižních Čech až po Železné hory, Žďárské vrchy a Moravské podhůří Vysočiny. Na sever od této hranice byl zaznamenán ojedinělý výskyt v Libochovické tabuli a Dolním Povltaví, kam mohl být tetraploid zavlečen v rámci povodní.
- 2) Na rozdíl od dosavadních poznatků byly nalezeny i populace s přítomností více cytotypů. V kontaktní zóně, ve které se rozšíření diploidních a tetraploidních cytotypů prolíná, bylo nalezeno 17 takých populací. Cytotypy se vyskytovaly v těchto kombinacích:  $2x + 4x$ ,  $2x + 3x$  a  $2x + 3x + 4x$ .
- 3) Triploidní cytotyp byl poměrně početný a z celkového analyzovaného materiálu jeho podíl činil 2,5 %. Triploidní jedinci byli nalezeni ve čtyřech populacích, které se vyskytovaly v kontaktní zóně mezi diploidními a tetraploidními populacemi.
- 4) Tetraploidní populace na území ČR mají společný původ, jak potvrdily AFLP analýzy. Ale není možné vyloučit, že ojediněle vznikají v populacích, které jsou v kontaktní oblasti diploidů a tetraploidů. Naše analýzy však takové jedince nepotvrdily.
- 5) Existence triploidů a smíšených populací zřejmě umožňuje omezený tok genů mezi diploidy a tetraploidy.
- 6) Metoda AFLP v kombinaci s průtokovou cytometrií jsou vhodnou metodou pro studium populací těchto dvou poddruhů v ČR, představují i vhodný model pro studium dynamiky populací více cytotypů.
- 7) Areály druhů alpských migrantů se od sebe výrazně liší, odlišnosti jsou způsobené ekologickými nároky a způsoby šíření. *C. amara* subsp. *austriaca* má v porovnání s ostatními druhy zřejmě nejrozsáhlejší areál v ČR.

## 10. ABSTRACT

The presented diploma thesis has the following main aims: (1) to characterize the distribution areas of the diploid *Cardamine amara* L. subsp. *amara* and tetraploid *C. amara* subsp. *austriaca* Marhold in the Czech Republic; (2) to explore if diploids and tetraploids co-occur at same localities, and if there is some evidence of gene flow between the ploidy levels; (3) to explore if the tetraploid populations have a single or multiple origins and colonization routes in the Czech Republic; (4) to find if several Alpine migrant species in the Czech Republic, including *C. amara* subsp. *austriaca*, share similar distribution patterns.

To address these questions, detailed sampling was conducted over the area of the Czech Republic and closely adjacent areas, and the samples were subjected to flow cytometric (estimation of DNA ploidy level), karyological (determination of chromosome numbers), and molecular (AFLP) analyses.

DNA ploidy level was determined for 3266 plants of *C. amara* from 299 localities. 176 populations were found to be tetraploid ( $2n = 32$ , corresponding to subsp. *austriaca*), and 105 populations were diploid ( $2n = 16$ , corresponding to subsp. *amara*). In addition, at 17 localities sampled in contact zones, co-occurrence of both cytotypes (subspecies) was confirmed. At four localities also triploid plants were found. In conclusion, the distribution area of the tetraploid subspecies in the Czech Republic is confined to the following phytogeographical districts: Šumava, Novohradské hory, Český les, Slavkovský les, Budějovická pánev, Třeboňská pánev, Českomoravská vrchovina, Střední Povltaví, Plzeňská pahorkatina, Křivoklátsko, Brdy, Žďárské vrchy, Jihlavské vrchy, and Železné hory. A scarce occurrence of this subspecies was proven also in the Libochovická tabule and Dolní Povltaví, but it was probably brought there by floodings.

AFLP data showed a clear genetic distinction between the cytotypes (subspecies), and thus, suggest a single origin (and colonization route) of all tetraploid populations in the studied area. Nevertheless, there is an evidence of some gene flow between the diploids and tetraploids, most likely via triploid individuals. Triploids persist in populations and spread vegetatively. They, however, apparently produce also a limited amount of viable gametes, since seeds were observed.

Distribution patterns of Alpine migrants in the Czech Republic possess some common features, but still are rather diverse. Except for historical factors, ecological amplitude, dispersal abilities, and reproduction modes are among the other key factors that have shaped their current distribution areas. *C. amara* subsp. *austriaca* occupies the broadest area in the Czech Republic when compared with the other studied Alpine migrants.



## 11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Al-Shehbaz I. A. (1988): The genera of Arabideae (*Cruciferae*, *Brassicaceae*) in the Southeastern United States. – *Journal of the Arnold Arboretum* 69: 85-166.
- Applied Biosystems (2005): *AFLP® plant mapping, protocol*. – AB Applied Biosystems, Foster City.
- Bleeker W. & Hurka H. (2001): Introgressive hybridization in *Rorippa* (*Brassicaceae*): gene flow and its consequences in natural and anthropogenic habitats. – *Molecular Ecology* 10: 2013-2022.
- Bonin A., Bellemain E., Bronken-Eidesen P., Pompanon F., Brochmann C. & Taberlet P. (2004): How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. – *Molecular Ecology* 13: 3261-3273.
- Bussell J. D., Waycott M. & Chappill J. A. (2005): Arbitrarily amplified DNA markers as characters for phylogenetic interference. – *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 7: 3-26.
- Comes H. P. & Kadereit J. W. (1998): The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. – *Trends in Plant Sciences* 3: 432-438.
- Corander J., Marttinen P., Sirén J. & Tang J. (2006): BAPS: *Bayesian analysis of population structure, Manual v. 4.1*. – Available at: <http://www.rni.helsinki.fi/~jic/bapspage.html>.
- Crantz H. J. N. (1769): *Classis Cruciformium emendata*. – Lipsiae.
- Doležel J. (1997): Application of flow cytometry for the study of plant genomes. – *Journal of Applied Genetics* 38: 285-302.
- Doležel J. & Bartoš J. (2005): Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. – *Annals of Botany* 95: 99-110.
- Doležel J., Doleželová M. & Novák F. J. (1994): Flow cytometry estimation of nuclear DNA amount in diploid ananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). – *Biologia Plantarum* 36: 11-15.
- Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): *Flow cytometry with plant cells: Analysis of genes, chromosomes and genomes*. – Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Ehrich D. (2006): AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data. – *Molecular Ecology Notes* 6: 603-604.
- Everitt B. (1986): *Cluster analysis*, Ed. 2. – Gower, Halsted Press, New York.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. (2005): Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. – *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Franzke A. & Mummenhoff K. (1999): Recent hybrid speciation in *Cardamine* (*Brassicaceae*): conversion of nuclear ribosomal ITS sequences in statu nascendi. – *Theoretical and Applied Genetics* 98: 831-834.
- Franzke A., Pollman K., Bleeker W., Kohrt R. & Hurka H. (1998): Molecular systematics of *Cardamine* and allied genera (*Brassicaceae*): ITS and non-coding chloroplast DNA. – *Folia Geobotanica* 33: 225-240.
- Gabrielsen T. M., Bachmann K., Jakobsen K. S. & Brochmann C. (1997): Glacial survival does not matter: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga oppositifolia*. – *Molecular Ecology* 6: 831-842.
- Galbraith D. W., Harkins K. R., Maddox J. M., Ayres N. M., Sharma D. P. & Firoozabady E. (1983): Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. – *Science* 220: 1049-1051.
- Greilhuber J., Doležel J., Lysák M.A. & Bennett M.D. (2005): The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. – *Annals of Botany* 95: 255-260.

- Gugerli F., Sperisen C., Büchler U., Magni F., Geburek T., Jeandróz S. & Senn J. (2001): Haplotype variation in a mitochondrial tandem repeat of Norway spruce (*Picea abies*) populations suggests a serious founder effect during postglacial re-colonization of the western Alps. – *Molecular Ecology* 10: 1255-1263.
- Hájek M. (2001): Prameniště. – In: Chytrý M., Kučera T. & Kočí M. (eds.), *Katalog biotopů České republiky*, Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, pp. 56-62.
- Hegi G. (1986): *Illustrierte Flora von Mitteleuropa IV/1*. – Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg.
- Hendrych R. (1984): *Fytogeografie*. – SPN, Praha.
- Hendrych R. (1985): Karpatische migrationen und Florenbeziehungen in den Tschechischen Ländern der Tschechoslowakei. – *Acta Universitatis Carolinae, Biologica* 11/3-4: 229-237.
- Hewitt G. M. (1999): Post-glacial re-colonization of European biota. – *Biological Journal of the Linnean Society* 68: 87-112.
- Hrouda L. (1992): *Cardamine* L. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.) (1992), *Květena České republiky* 3, Academia, Praha, pp. 92-103.
- Hrouda L. & Marhold K. (1993): The distribution of *Cardamine amara* subsp. *opicii* (Cruciferae) in the Sudeten mountains. – *Preslia* 65: 27-32.
- Chán V. (ed.) (1999): Komentovaný Červený seznam květeny jižní části Čech. – *Příroda* 16: 1-284.
- Chmelař J. & Koblížek J. (2003): *Salix* L. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky* 2, Academia, Praha, pp. 458-476.
- Chytrý M. & Tichý L. (2003): Diagnostic, constant and dominant species of vegetation classes and alliances of the Czech Republic: a statistical revision. – *Folia Facultatis Scientiarum Naturalium Universitatis Masarykianae Brunensis* 108: 1-231.
- Jalas J. & Suominen J. (eds.) (1976): *Atlas florae Europaeae* 3. – The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
- Jalas J. & Suominen J. (eds.) (1994): *Atlas florae Europaeae* 10. – The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
- Johnston J. S., Pepper A. E., Hall A. E., Chen Z. J., Hodnett G., Drabek J., Lopez R. & Price H. J. (2005): Evolution of genome size in *Brassicaceae*. – *Annals of Botany* 95: 229-235.
- Jones B. M. G. (1964): *Cardamine* L. – In: Tutin T. G. et al. (eds.), *Flora europaea* 1, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 285-289.
- Jones B. M. G. & Akeroyd J. R. (1993): *Cardamine* L. – In: Tutin T. G. et al. (eds.), *Flora Europaea* 1, Ed. 2, Cambridge University Press, pp. 346-351.
- Kirschner J. & Kirschnerová L. (2000): *Gentiana* L. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky* 6, Academia, Praha, pp. 99-100.
- Kirschnerová L. (2004): *Willemetia* Necker. – In: Slavík B. & Štěpánková J. (eds.), *Květena České republiky* 7, Academia, Praha, pp. 507-508.
- Klášterský I. (1961): Florogenetische Elemente der Tschechoslowakei. – *Acta Musei Nationalis Pragae* 17: 129-157.
- Kovanda M. (2003): *Duschekia* Opiz. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky* 2, Academia, Praha, pp. 50-51.
- Kovanda M. (2003): *Soldanella* L. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky* 3, Academia, Praha, pp. 256-258.

- Krahulcová A. (1998): *Karyologie cévnatých rostlin. Příručka praktických cvičení*. – BÚ AV ČR, Průhonice.
- Krzanowski W. J. (1990): *Principles of multivariate analysis*. – Clarendon Press, Oxford.
- Kučera J., Lihová J. & Marhold K. (2006): Taxonomy and phylogeography of *Cardamine impatiens* and *C. pectinata* (Brassicaceae). – *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 169-195
- Kučera J. & Marhold K. (2006): New records on the occurrence, distribution and chromosome numbers of *Cardamine amara* and the *C. pratensis* group in Croatia. – *Phyton (Horn, Austria)* 46: 99-111.
- Kučera J., Tremetsberger K., Vojta J. & Marhold K. (2008): Molecular study of the *Cardamine maritima* group (Brassicaceae) from the Balkan and Apennine Peninsulas based on amplified fragment length polymorphism (AFLP). – *Plant Systematics and Evolution* (in press).
- Kučera J., Valko I. & Marhold K. (2005): On-line database of the chromosome numbers of the genus *Cardamine* (Brassicaceae). – *Biologia (Bratislava)* 60: 473-476 (database available on-line at <http://147.213.100.117/cardamine/index.php>).
- Lakušić D., Novčić R., Kučera J. & Marhold K. (2006): *Cardamine pancicii* Hayek (Brassicaceae), a neglected species of the Balkan Peninsula – morphological and molecular evidence. – *Willdenowia* 36 (Special issue): 177-191.
- Lawrence W. J. C. (1931): The secondary association of chromosomes. – *Cytologia* 2: 352-384.
- Legendre P. & Legendre L. (1998): *Numerical ecology*. – Ed. 2, Amsterdam, Elsevier.
- Lihová J., Carlsen T., Brochmann C. & Marhold K. (2008): Contrasting phylogeographies inferred for the two alpine sister species *Cardamine resedifolia* and *C. alpina* (Brassicaceae). – *Journal of Biogeography* (in press).
- Lihová J., Fuertes Aguilar J., Marhold K. & Nieto Feliner G. (2004c): Origin of the disjunct tetraploid *Cardamine amporitana* (Brassicaceae) assessed with nuclear and chloroplast DNA sequence data. – *American Journal of Botany* 91: 1231-1242.
- Lihová J., Kučera J., Perný M. & Marhold K. (2007): Hybridization between two polyploid *Cardamine* (Brassicaceae) species in north-western Spain: discordance between morphological and genetic variation patterns. – *Annals of Botany* 99: 1083-1096.
- Lihová J. & Marhold K. (2003): Chromosome numbers and distribution of *Cardamine amara* (Brassicaceae) in Slovenia. – *Biologia (Bratislava)* 57: 37-43.
- Lihová J. & Marhold K. (2006): Phylogenetic and diversity patterns in *Cardamine* (Brassicaceae) – a genus with conspicuous polyploid and reticulate evolution. – In: Sharma A. K. & Sharma A. (eds.) *Plant genome: biodiversity and evolution, 1C: Phanerogams (Angiosperms - Dicotyledons)*, Science Publishers, Inc., Enfield, pp. 149-186.
- Lihová J., Marhold K. & Neuffer B. (2000): Taxonomy of *Cardamine amara* (Brassicaceae) in the Iberian Peninsula. – *Taxon* 49: 747-763.
- Lihová J., Marhold K., Tribsch A. & Stuessy T. F. (2004a): Morphometric and AFLP re-evaluation of tetraploid *Cardamine amara* (Brassicaceae) in the Mediterranean. – *Systematic Botany* 29: 134-146.
- Lihová J., Shimizu K. K. & Marhold K. (2006): Allopolyploid origin of *Cardamine asarifolia* (Brassicaceae): Incongruence between plastid and nuclear ribosomal DNA sequences solved by a single-copy nuclear gene. – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 759-786.
- Lihová J., Tribsch A. & Marhold K. (2003): The *Cardamine pratensis* (Brassicaceae) group in the Iberian Peninsula: taxonomy, polyploidy and distribution. – *Taxon* 52: 783-802.

- Lihová J., Tribsch A. & Stuessy T. F. (2004b): *Cardamine apennina*: a new endemic diploid species of the *C. pratensis* group (*Brassicaceae*) from Italy. – *Plant Systematics and Evolution* 245: 69-92.
- Linnaeus C. (1753): *Species plantarum*. – Ed. 1, Holmiae.
- Lökvist B. (1957): Experimental studies in *Cardamine amara*. – *Botaniska Notiser* 110: 423-441.
- Manton I. (1932): Introduction to the general cytology of the *Cruciferae*. – *Annals of Botany* 46: 509-556.
- Marhold K. (1992a): *Cardamine amara* L. In the Slovakian and Polish Carpathians. – *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes ETH Stiftung Rübel Zürich* 106 (1991): 273-281.
- Marhold K. (1992b): A multivariate morfometric study of the *Cardamine amara* group (*Cruciferae*) in the Carpathian and Sudeten mountains. – *Botanical journal of the Linnean Society* 110: 121-135.
- Marhold K. (1993): *Cardamine amara* L. & *C. pratensis* L. – In: Tutin et al. (eds.), *Flora Europaea* 1: 348-350, Ed. 2, Cambridge University Press, Cambridge.
- Marhold K. (1994): Chromosome numbers of the genus *Cardamine* L. (*Cruciferae*) in the Carpathians and Pannonia. – *Phyton (Horn, Austria)* 34: 19-34.
- Marhold K. (1995): Taxonomy of the genus *Cardamine* L. (*Cruciferae*) in the Carpathians and Pannonia. II. *Cardamine amara* L. – *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* 30: 63-80.
- Marhold K. (1999a): *Taxonomic studies of the genus Cardamine L. in its European area*. – Ms. [Habilitation práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha].
- Marhold K. (1999b): Taxonomic evaluation of the tetraploid populations of *Cardamine amara* (*Brassicaceae*) from the Eastern Alps and adjacent areas. – *Botanica Helvetica* 109: 67-84.
- Marhold K. & Ančev M. E. (1999): *Cardamine penzesii*, a rediscovered taxon of the *Cardamine pratensis* group (*Cruciferae*). – *Annales Botanici Fennici* 36: 171-180.
- Marhold K., Huthmann M. & Hurka H. (2002a): Evolutionary history of the polyploid complex of *Cardamine amara* (*Brassicaceae*): isozyme evidence. – *Plant Systematics and Evolution* 233: 15-28.
- Marhold K. & Kochjarová J. (2002): *Cardamine* L. – In: Goliašová K. & Šípová H. (eds.), *Flóra Slovenska* V/4, Veda VSAV, Bratislava, pp. 316-382.
- Marhold K. & Lihová J. (2006): Polyploidy, hybridization and reticulate evolution: lessons from the *Brassicaceae*. – *Plant Systematics and Evolution* 259: 143-174.
- Marhold K., Lihová J., Perný M. & Bleeker W. (2004): Comparative ITS and AFLP analysis of diploid *Cardamine* (*Brassicaceae*) taxa from closely related polyploid complexes. – *Annals of Botany* 93: 507-520.
- Marhold K., Lihová J., Perný M., Gruppe R. & Neuffer B. (2002b): Natural hybridization in *Cardamine* (*Brassicaceae*) in the Pyrenees: evidence from morphological and molecular data. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 275-294.
- Marhold K., Mártonfi P., Mered'a P. & Mráz P. (2007): *Chromosome number survey of the ferns and flowering plants of Slovakia*. – Veda VSAV, Bratislava.
- Marhold K. & Valachovič M. (1998): Coenotic differentiation of the intraspecific taxa of *Cardamine amara* (*Brassicaceae*) in Central Europe and the Balkan Peninsula. – *Thaiszia* 8: 147-161
- Marhold K. & Suda J. (2002): *Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody)*. – Karolinum, Praha.
- Mártonfi P., Michálek J., Hadinec J., Mártonfiová L. & Repčák M. (1999): *Hypericum dubium* – a new species of the Czech flora. – *Preslia* 71: 337-348.
- Meusel H. & Jäger E. (1992): *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora* 3. – Fischer Verlag, Jena.

- Meusel H., Jäger E. & Weinert E. (1978): *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. 2. – Fischer Verlag, Jena.
- Mueller U.G. & Wolfenberger L. L. (1999): AFLP genotyping and fingerprinting. – *Trends in Ecology & Evolution* 14: 389-394.
- Mummenhoff K., Linder P., Friesen N., Bowman J. L., Lee J.-Y. & Franzke A. (2004): Molecular evidence for bicontinental hybridogenous genomic constitution in *Lepidium sensu stricto* (*Brassicaceae*) species from Australia and New Zealand. – *American Journal of Botany*. 91: 254-261.
- Murín A. (1960): Substitution of cellophane for glass covers to facilitate preparation of permanent squashes and smears. – *Stain Technology* 35: 351-353.
- Nei M. (1987): *Molecular evolutionary genetics*. – Columbia University Press, New York.
- Nei M. & Li W.H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. – *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 5269-5273.
- Neuhäuslová Z. (2001): Údolní jasano-olšové luhy. – In: Chytrý M., Kučera T. & Kočí M.(eds.), *Katalog biotopů České republiky*, Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, pp. 175-176.
- Niklfeld H. (1971): Bericht über die Kartierung der Flora Mitteleuropas. – *Taxon* 20: 545-571.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. – In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. (eds), *Methods in cell biology* 33, Academic Press, New York, pp. 105-110.
- Palmé A.E., Su Q., Rautenberg F., Manni F. & Lascoux M. (2003): Postglacial recolonization and cpDNA variation of silver birch, *Betula pendula*. – *Molecular Ecology* 12: 201-212.
- Perný M., Tribsch A., Stuessy T. & Marhold K. (2005a): Taxonomy and cytogeography of *Cardamine raphanifolia* and *C. gallaecica* (*Brassicaceae*) in the Iberian Peninsula. – *Plant Systematics and Evolution* 254: 69-91.
- Perný M., Tribsch A., Stuessy T. & Marhold K. (2005b): Allopolyploid origin of *Cardamine silana* (*Brassicaceae*) from Calabria (southern Italy): karyological, morphological and molecular evidence. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 148: 101-116.
- Petit R.J., Pineau E., Demesure B., Bacilieri R., Ducouso A. & Kremer A. (1997): Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. – *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 9996-10001.
- Procházka F. (1961): *Gentiana pannonica* Scop. V ČSSR. – *Preslia* 33: 268-276.
- Procházka F. (1972): *Gentiana pannonica* Scop. – hořec panonský. – *Sborník Jihočeského muzea v Českých Budějovicích* 12 (Suppl. 3): 24-29.
- Qiagen (2004): *DNeasy® Plant Mini and DNeasy Plant Maxi handbook for isolation of DNA from plant tissue*.
- Ramsey J. & Schemske D.W. (1998): Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants. – *Annual Review of Ecology and Systematics*. 29: 467-501.
- Rejzková E. (2006): *Postglaciální historie populací Carex pilosa s přihlédnutím k jejich demografii*. – Ms. [Dipl. Práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha].
- Růžicka I. (1968): Rozšíření *Arnica montana* L., *Soldanella montana* Mikan, *Leucojum vernum* L. a *Calamagrostis villosa* (Chaix) Gmel. na Českomoravské vysočině. – *Preslia* 40: 200-216.
- SAS Institute (2000): *SAS OnlineDoc®, Version 8 (available online)*. – SAS Institute, Cary.

- Schlüter P. M. & Harris S. A. (2006): Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data. – *Molecular Ecology Notes* 6: 569-572.
- Schönswetter P. & Tribsch A. (2005): Vicariance and dispersal in the alpine perennial *Bupleurum stellatum* L. (*Apiaceae*). – *Taxon* 54: 715-732.
- Schönswetter P., Tribsch A., Barfus M. & Niklfeld H. (2002): Several Pleistocene refugia detected in the high alpine plant *Phyteuma globulariifolium* Sternb. & Hoppe (*Campanulaceae*) in the European Alps. – *Molecular Ecology* 11: 2637-2647.
- Schönswetter P., Tribsch A. & Niklfeld H. (2004b): Amplified fragment length polymorphism (AFLP) suggests old and recent immigration into Alps by the arctic-alpine annual *Comastoma tenellum* (*Gentianaceae*). – *Journal of Biogeography* 31: 1673-1681.
- Schönswetter P., Tribsch A., Stehlik I. & Niklfeld H. (2004a): Glacial history of high alpine plant *Ranunculus glacialis* (*Ranunculaceae*) in the European Alps in a comparative phylogeographical context. – *Biological Journal of the Linnean Society* 81: 183-195.
- Skalický V. (1997): Regionálně fytogeografické členění. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky 1*, Academia, Praha, pp. 103-121.
- Slavík B. (1985): Sít'ové mapování v botanice. – *Živa* 6: 210-213.
- Slavík B. (1986): *Fytokartografické syntézy ČSR 1*. – Academia, Praha.
- Slavík B. (1988): Fytogeografická charakteristika. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky 1*, Academia, Praha, pp. 65-102.
- Slavík B. (1990): *Fytokartografické syntézy ČR 2*. – Academia, Praha.
- Slavík B. (2000): Mapy. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds.), *Květena České republiky 6*, Academia, Praha, pp. 32-61.
- Soltis D. E. (2008): Polyploidy and angiosperm diversification. – In: Anonymous (ed.), *Book of abstracts*, Xth Symposium of the International Organization of Plant Biosystematists, 2-4 July 2008, Vysoké Tatry, Slovakia.
- Soltis D. E., Soltis P. S. & Tate J. A. (2004): Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. – *New Phytologist* 161: 173-191.
- Spasskaya N. A. (1979): Khromosomnie chisla vidov roda *Cardamine* L. (*Brassicaceae*) Evropeiskoi chasti SSSR. – *Botaničeskij Zhurnal S.S.S.R.* 64: 1099-1109.
- Stehlik I., Schneller J. J. & Bachmann K. (2001): Resistance or emigration: response of the high-alpine plant *Eritrichium nanum* (L.) Gaudin to the ice age within the Central Alps. – *Molecular Ecology* 10: 357-370.
- Stehlik I., Schneller J. J. & Bachmann K. (2002): Immigration and in situ survival of the low-alpine *Erinus alpinus* (*Scrophulariaceae*). – *Biological Journal of the Linnean Society* 77: 87-103.
- Suda J. (2004): *An employment of flow cytometry into plant biosystematics*. – Ms. [Disert. práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha].
- Suda J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. – *Živa* 1: 46-48.
- Sweeney P. W. & Price R. A. (2001): A multivariate morphological analysis of the *Cardamine concatenata* alliance (*Brassicaceae*). – *Brittonia* 53: 82-95.
- Swofford D.L. (2001): *PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (\* and other methods)*, version 4.0 beta 10. – Sinauer, Sunderland.

- Šmarda J., Doškař J., Pantůček R., Růžicková V. & Koptíková J. (2005): *Metody molekulární biologie*. – MU, Brno.
- Štěpán J. (1970): Dřípatka horská – soldanelka horská. – *Ochrana přírody* 25: 99-100.
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A-G. & Cossons J-F. (1998): Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. – *Molecular Ecology* 7: 453-464.
- Tischler G. (1950): *Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas*. – Uitgeverij W. Junk, s'Gravenhage, Haag.
- Tribsch A. & Schönswetter P. (2003): Patterns of endemism and comparative phylogeography confirm palaeoenvironmental evidence for Pleistocene refugia in the Eastern Alps. – *Taxon* 52: 477-497.
- Tribsch A., Schönswetter P. & Stuessy T. F. (2002): *Saponaria pumila* (Caryophyllaceae) and the Ice Age in the European Alps. – *American Journal of Botany* 89: 2024-2033.
- Urbanska K. (1987): Disturbance, hybridization and hybrid speciation. – In: Andel van J. *et al.* (eds.), *Disturbance in grasslands*, Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, pp. 285-301.
- Urbanska K. M., Hurka H., Landolt E., Neuffer B. & Mummenhoff K. (1997): Hybridization and evolution in *Cardamine* (Brassicaceae) at Urnerboden, Central Switzerland: biosystematic and molecular evidence. – *Plant Systematics and Evolution* 204: 233-256.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. & Zabeau M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. – *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Warwick S. I. & Al-Shehbaz I. A. (2006): *Brassicaceae*: chromosome number index and database on CD-Rom. – *Plant Systematics and Evolution* 259: 237-248.
- Weising K., Nybom H., Wolf K. & Kahl G. (2005): *DNA fingerprinting in plants: Principles, methods and applications*. – CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, USA.
- Zhang L-B., Comes H. P. & Kadereit J. W. (2001): Phylogeny and quaternary history of the European montane/alpine endemic *Soldanella* (Primulaceae) based on ITS and AFLP variation. – *American Journal of Botany* 88: 2331-2345.



## 12. SEZNAM OBRÁZKŮ

### 2. Charakteristika rodu *Cardamine* L.

- Obr. 1: Rozšíření druhu *Cardamine amara* v Evropě (Jalas & Suominen 1994).  
 Obr. 2: Mapa rozšíření skupiny *Cardamine amara* v Evropě (upraveno podle práce Lihová *et al.* 2004b).  
 Obr. 3: Mapa rozšíření *Cardamine amara* subsp. *opicii* v Sudetských pohořích (Hrouda & Marhold 1993).  
 Obr. 4: Mapa rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* a subsp. *austriaca* v České republice a přilehlých oblastech Německa a Rakouska (Marhold 1999a).  
 Obr. 5: Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *amara* a subsp. *austriaca* v ČR (Slavík 1998).  
 Obr. 6: A – *Cardamine amara* subsp. *amara* (Marhold 1995), B – *Cardamine amara* subsp. *austriaca* (Marhold 1999b).

### 3. Materiál

- Obr. 7: Mapa ČR s vyznačenou sítí střeoevropského mapování (Slavík 2000).  
 Obr. 8: Síťová mapa lokalit zkoumaných v rámci této studie.

### 4. Cytometrie

- Obr. 9: Schéma průtokové komůrky (Doležel 2007).  
 Obr. č. 10: Příklad výstupu z průtokového cytometru – histogramu, který znázorňuje píky *Cardamine amara* G1 a G2, a pík standartu *Glycine max*.  
 Obr. 11: Síťová mapa výskytu diploidních, triploidních, tetraploidních a smíšených populací *Cardamine amara* v České republice na základě vlastních dat.  
 Obr. 12: Síťová mapa výskytu *Cardamine amara* subsp. *austriaca* v České republice na základě vlastních dat.  
 Obr. 13: Síťová mapa výskytu *Cardamine amara* subsp. *amara* v České republice na základě vlastních dat.  
 Obr. 14: Výšečový graf znázorňující poměr zastoupení ploidii jednotlivých rostlin v analyzovaném materiálu.  
 Obr. 15: Krabicový diagram distribuce plodných úrovní dle nadmořské výšky.  
 Obr. 16: Graf distribuce diploidů a tetraploidů podle nadmořské výšky.  
 Obr. 17: Výstup z průtokového cytometru diploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *amara* z lokality 6045.  
 Obr. 18: Výstup z průtokového cytometru triploidní rostliny *Cardamine amara* z lokality 6263.  
 Obr. 19: Výstup z průtokového cytometru tetraploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *austriaca* z lokality 6457.  
 Obr. 20: Výstup z průtokového simultánní analýzy tří plodných úrovní druhu *Cardamine amara* a standartu *Glycine max*.  
 Obr. 21: Výstup z průtokového cytometru diploidní rostliny *Cardamine amara* subsp. *amara* z lokality 5641.  
 Obr. 22: Výstup z průtokového cytometru smíšeného vzorku *Cardamine amara* z lokality 6045.  
 Obr. 23: Síťová mapa cytotypově smíšených populací *Cardamine amara* v ČR nalezených v rámci této studie.  
 Obr. 24: Fotografie lokality 6042.  
 Obr. 25: Mapa lokality 6042 ([www.supermapy.atlas.cz](http://www.supermapy.atlas.cz)).  
 Obr. 26: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6042.

- Obr. 27: Fotografie lokality 6543.  
 Obr. 28: Mapa lokality 6543 (www.supermapy.atlas.cz).  
 Obr. 29: Prostorové uspořádání cytotypu na lokalitě 6543  
 Obr. 30: Fotografie lokality 6353.  
 Obr. 31: Mapa lokality 6353 (www.supermapy.atlas.cz).  
 Obr. 32: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6353.  
 Obr. 33: Fotografie lokality 6045.  
 Obr. 34: Mapa lokality 6045 (www.supermapy.atlas.cz).  
 Obr. 35: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6045.  
 Obr. 36: Fotografie lokality 6254.  
 Obr. 37: Mapa lokality 6254 (www.supermapy.atlas.cz).  
 Obr. 38: Prostorové uspořádání cytotypů na lokalitě 6254.  
 Obr. 39: Fotografie plodícího triploidního jedince z lokality 6254 Hlíňanky.

## 5. Karyologie

- Obr. 40: Chromozómy triploidní rostliny č. 6045/7 ( $2n = 24$ ) nalezené na lokalitě 6045 Lipí.

## 6. Druhy alpské migrace

- Obr. 41: Obecné rozšíření druhů alpské migrace v ČR (Hendrych 1985).  
 Obr. 42: Rozšíření *Soldanella montana* v ČR (Slavík 1988).  
 Obr. 43: Rozšíření *Soldanella montana* v Evropě (Meusel et al. 1978).  
 Obr. 44: Rozšíření *Willemetia stipitata* v Evropě (Meusel & Jäger 1992).  
 Obr. 45: Rozšíření *Willemetia stipitata* v ČSR (Klásterský 1961).  
 Obr. 46: Rozšíření *Duschekia alnobetula* v Evropě (Jalas 1976).  
 Obr. 47: Rozšíření *Duschekia alnobetula* v ČR (Slavík 1990).  
 Obr. 48: Rozšíření *Salix appendiculata* v Evropě (Jalas 1976).  
 Obr. 49: Rozšíření *Salix appendiculata* v ČR (Slavík 1990).  
 Obr. 50: Rozšíření *Gentiana panonnica* v Evropě (Meusel et al. 1978).  
 Obr. 51: Rozšíření *Gentiana panonnica* v ČR (Slavík 2000).  
 Obr. 52: Rozšíření *Cardamine amara* subsp. *austriaca* v ČR na základě vlastních dat.

## 7. AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism)

- Obr. 53: Síťová mapa populací analyzovaných metodou AFLP zobrazující hodnoty DW indexu.  
 Obr. 54: Síťová mapa populací analyzovaných metodou AFLP zobrazující míru genetické diverzity.  
 Obr. 55: Analýza hlavních koordinát (PCoA) vypočítaná s použitím Jaccardova koeficientu.  
 Obr. 56: Grafický výstup Bayesovské analýzy v programu BABS 3.2.  
 Obr. 57: Zakořeněný dendrogram metody nejbližšího souseda (neighbour-joining tree) získaný AFLP analýzou.  
 Obr. 58: Nezakoreněný dendrogram metody nejbližšího souseda (neighbour-joining tree) získaný AFLP analýzou.  
 Obr. 59: Dendrogram sestavený metodou průměrné vzdálenosti (UPGMA) shlukové analýzy získaný AFLP analýzou 143 vzorků *Cardamine amara*.

## 13. SEZNAM TABULEK

### 2. Charakteristika rodu *Cardamine* L.

Tab. 1: Přehled rozšíření jednotlivých podruhů komplexu *Cardamine amara* L.

Tab. 2: Publikované počty chromozómů ve skupině *Cardamine amara* v Evropě.

### 3. Materiál

Tab. 3: Přehled všech lokalit zkoumaných v rámci této studie.

### 4. Cytometrie

Tab. 4: DNA plodní úroveň zjištěná u druhu *Cardamine amara*.

Tab. 5: Absolutní velikosti genomu v pikogramech (pg) pro jednotlivé DNA ploidní úrovně *Cardamine amara*.

Tab. č. 6: Seznam lokalit *Cardamine amara* s výskytem dvou a více cytotypů.

### 5. Karyologie

Tab. 7: Počty chromozómů zjištěné metodou roztakových preparátů.

### 7. AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism)

Tab. 8: Použité kombinace AFLP primerů.

Tab. 9: Přehled analyzovaných populací metodou AFLP.

Tab. 10: Přehled počtů fragmentů v rámci ploidních úrovní.

Tab. 11: Přehled počtu fragmentů v rámci jednotlivých populací.

Tab. 12: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) celého datového souboru ( $2x + 3x + 4x$ ).

Tab. 13: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) diploidního cytotypu.

Tab. 14: Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) tetraploidního cytotypu.

## 14. PŘÍLOHY

### Seznam příloh

Podrobná tabulka všech lokalit zmapovaných v rámci této studie .....	115
Tabulka změřených DNA ploidních úrovní .....	134
Tabulka naměřených velikostí genomu .....	147

Podrobná tabulka všech lokalit zmapovaných v rámci této studie. Populace, ze kterých jsem počítala chromozómy, jsou znázorněné symbolem \*, populace analyzované metodou AFLP symbolem ⊗ a populace cytometricky změřené symbolem ¶.

Pořadí	Číslo základního pole = číslo lokality	Název lokality	Fytogeografický okres	Popis lokality	Blížší určení polohy lokality	GPS souřadnice (WGS-84)	Nadmořská výška (m.n.m.)	DNA ploidní stupeň	Datum sběru	Typ analýzy
1	5052	Mikulášovice	47. Šluknovská pahorkatina	Mikulášovice - břeh potůčku v louce u koupaliště	cca 6 km JZ od Šluknova	N50°57' 28,6'' E14°21' 42,7''	428	2x	16.5.2008	¶
2	5351	Hradec	45. Verneřické středohoří; a – Lovečkovické středohoří	potok u křižovatky v obci Hradec	cca 2,5 km SZ od Úštěku	N50°36' 27,8'' E14°17' 13,9''	346	2x	20.4.2008	⊗¶
3	5449	Velemín	4. Lounsko-labské středohoří; b – Labské středohoří	potok v obci Velemín	cca 6 km SZ od Lovosic	N50°32' 36,7'' E14°00' 15,0''	282	2x	18.5.2007	⊗¶
4	5450	Opárenské údolí	4. Lounsko-labské středohoří; b – Labské středohoří	Opárenské údolí - Milešovský potok	cca 5 km SZ od Lovosic	N50°32' 24,2'' E13°58' 48,2''	222	2x	18.5.2007	¶
5	5451	Starý Mlýnec	45. Verneřické středohoří; a – Lovečkovické středohoří	Starý Mlýnec - potok u křižovatky	cca 10 km SV od Litoměřic	N50°35' 16,0'' E14°13' 06,7''	268	2x	18.5.2007	¶
6	5452	Zakšín	51. Polomené hory	potůček podél silnice v obci Zakšín	cca 4,5 km JZ od Dubé	N50°31' 33,1'' E14°29' 36,2''	262	2x+4x	20.4.2008	¶
7	5453	Rozprechtice	51. Polomené hory	potok v obci Rozprechtice u odb. na obec Vrabcov	cca 1,5 km J od Dubé	N50°31' 33,4'' E14°32' 52,4''	248	2x	20.4.2008	¶
8	5552	Želízy	51. Polomené hory	potok S od obce Želízy	cca 8 km S od Mělníka	N50°25' 41,7'' E14°27' 56,2''	195	2x	19.4.2008	¶
9	5553	Tubož	51. Polomené hory	potůček a hájek mezi obcí Tubož a Konrádov	cca 6 km S od Mšena	N50°29' 06,6'' E14°36' 10,7''	267	2x	20.4.2008	* ¶
10	5555	Velký Rečkov	52. Ralsko-bezděžská tabule	hájek u cedule naučné stezky přír.rez. Rečkov, u obce Velký Rečkov	cca 3 km SZ od Bakova nad Jizerou	N50°29' 55,7'' E14°54' 08,2''	305	2x	20.4.2008	⊗¶
11	5557	Samšina	55. Český ráj; c – Rovenská pahorkatina	bahniště u potoka v obci Samšina	cca 4 km V od Sobotky	N50°27' 24,5'' E15°14' 14,0''	304	2x	20.4.2008	¶
12	5641	Kraslice	22. Halštrovská vrchovina	potůček s bahništěm v zatáčce V od obce Kraslice	cca 0,5 km V od Kraslic	N50°18' 40,7'' E12°31' 56,1''	398	2x	25.4.2008	¶

13	5642	Nejdek	85. Krušné hory	rašeliniště před želez. přejezdem mezi obcemi Nejdek a Pernink	cca 3 km SV od Nejdku	N50°20' 54,3'' E12°46' 14,5''	909	4x	25.4.2008	☐
14	5643	Abertamy	85. Krušné hory	potok V od obce Abertamy	cca 10 km SV od Nejdku	N50°22' 07,4'' E12°50' 08,9''	869	4x	25.4.2008	☐
15	5644	Srní	25. Krušnohorské podhůří; a – Krušnohorské podhůří vlastní	potok v zátáčce mezi obcemi Srní a Krásný	cca 10 km SV od Ostrova	N50°22' 21,5'' E13°00' 55,5''	926	4x	25.4.2008	☐
16	5645	Brodce	1. Doupovská pahorkatina	potok cca 0,5 km J od obce Brodce	cca 6 km od Kadaně	N50°20' 50,1'' E13°13' 40,4''	437	2x	26.4.2008	☐
17	5649	Peruc	7. Středočeská tabule; a – Libochovická tabule	potok S od obce Peruc	cca 9 km V od Loun	N50°20' 57,6'' E13°57' 29,2''	258	4x	26.4.2008	☐
18	5656	Prodašice	13. Rožďalovická pahorkatina; a – Rožďalovická tabule	potok mezi obcemi Prodašice a Tuchom	cca 20 km JV od Mladé Boleslavi	N50°20' 34,3'' E15°08' 04,0''	234	2x	20.4.2008	☐
19	5740	Smrčina	22. Halštrovská vrchovina	potok v obci Smrčina	cca 20 km S od Chebu	N50°14' 03,0'' E12°22' 18,0''	505	2x+ 4x	26.4.2008	☐
20	5741	Krajková	22. Halštrovská vrchovina	potok u vodní nádrže Horka Z od obce Krajková	cca 15 km J od Kraslic	N50°13' 24,3'' E12°30' 18,6''	416	4x	26.4.2008	☐
21	5742	Vřesová	25. Krušnohorské podhůří; a – Krušnohorské podhůří vlastní	potůček v lese pod rybníčkem mezi obcemi Mezihorská a Vřesová	cca 8 km SZ od Chodova	N50°16' 05,4'' E12°41' 16,7''	604	2x	26.4.2008	☐
22	5744	Velichov	29. Doupovské vrchy	potok ve východním konci obce Velichov	cca 4 km JV od Ostrova	N50°17' 11,6'' E13°00' 00,6''	385	2x+ 4x	26.4.2008	☐
23	5745	Nová Ves I	1. Doupovská pahorkatina	potok jižně od obce Nová Ves	cca 12 km JZ od Podbořan	N50°12' 08,5'' E13°16' 25,0''	496	2x	26.4.2008	☐
24	5747	Deštnice	6. Džbán	potok v Deštnici, podél cesty u bus zastávky	cca 14 km J od Žatce	N50°13' 55,0'' E13°36' 30,7''	344	2x	26.4.2008	☐
25	5748	Domoušice	6. Džbán	potok S za obcí Domoušice, kousek před tratí	cca 17 km S od Rakovníka	N50°14' 24,8'' E13°44' 15,8''	332	2x	27.4.2008	☐☐
26	5749	Srbeč	6. Džbán	potok V od obce Srbeč	cca 15 km Z od Slaného	N50°13' 33,5'' E13°53' 59,3''	303	2x	27.4.2008	☐
27	5752	Vodochody	9. Dolní Povltaví	potok v obci Vodochody	cca 9 km JZ od Kralup nad Vltavou	N50°12' 21,8'' E14°23' 55,6''	230	4x	19.4.2008	☐
28	5841	Kostelní Bříza	86. Slavkovský les	potok mezi obcemi Rovná a Kostelní Bříza	cca 11 km J od Sokolova	N50°06' 30,2'' E12°38' 12,8''	587	4x	27.4.2008	☐
29	5842 A	Horní Slavkov	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	potok naproti pumpě CCS mezi obcemi Krásno a Horní Slavkov	cca 2 km J od Horního Slavkova	N50°07' 52,5'' E12°48' 10,8''	564	4x	8.5.2007	☐
30	5842 B	Rovná	86. Slavkovský les	potůček s bahništěm 1 km V od obce Rovná	cca 9 km J od Sokolova	N50°06' 05,3'' E12°41' 20,1''	750	4x	27.4.2008	☐

31	5843	Vodná	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	potok za Vodnou	cca 1 km V od Vodné	N50°06' 40,0'' E12°51' 47,5''	581	2x	8.5.2007	¶
32	5844	Údrč	28. Tepelské vrchy; e – Žlutická pahorkatina	potok mezi obcemi Údrč a Polom	cca 4 km JV od Bochova	N50°07' 48,3'' E13°05' 08,4''	608	2x	5.4.2007	¶
33	5845	Kostrč	1. Doupovská pahorkatina	potok u Kostrče (směr obec Valeč)	cca 6 km SZ od Lubence	N50°09' 14,9'' E13°15' 33,1''	483	2x	5.4.2007	¶
34	5846	Bílenec	2. Střední Poohří; b – Podbořanská kotlina	potok v obci Bílenec	cca 8 km S od Jesenice	N50°08' 15,3'' E13°27' 39,7''	366	2x	8.5.2007	¶
35	5847	Vrbice	2. Střední Poohří; b – Podbořanská kotlina	potok v obci Vrbice	cca 9 km JV od Blšan	N50°10' 16,3'' E13°31' 22,5''	331	2x	8.5.2007	⊗¶
36	5848	Lužná II	30. Jesenicko-rakovnická plošina; b – Rakovnická kotlina	potok na odbočce na Lužnou II	cca 4 km SV od Rakovníku	N50°08' 12,9'' E13°47' 26,3''	382	2x	8.5.2007	¶
37	5849	Lánská obora	32. Křivoklátsko	potok u Lánské obory	cca 6 km JZ od Lán	N50°06' 15,3'' E13°52' 57,0''	348	2x	8.5.2007	*¶
38	5850	Saky	7. Středočeská tabule; c – Slánská tabule	potok v obci Saky	cca 5 km J od Slaného	N50°11' 47,6'' E14°05' 42,2''	252	2x	10.5.2007	¶
39	5851	Kováry	7. Středočeská tabule; d – Bělohorská tabule	potok mezi obcemi Kováry a Libochovičky	cca 5 km J od Slaného	N50°11' 01,1'' E14°14' 46,6''	231	2x	10.5.2007	¶
40	5858	Pamětník	14. Cidlinská pánev; a – Bydžovská pánev	močálik v obci Pamětník	cca 5 km J od Chlumce nad Cidlinou	N50°07' 23,5'' E15°27' 15,1''	220	2x	18.4.2008	¶
41	5940	Stebnice	24. Horní Poohří; a – Chebská pánev	potok v obci Stebnice	JV od Chebu	N50°03' 13,3'' E12°26' 49,7''	445	4x	9.5.2007	¶
42	5941	Lázně Kynžvart	86. Slavskovský les	potůčky v lese cca 1 km S za Lázněmi Kynžvart	cca 7 km SZ od Mariánských Lázní	N50°00' 47,0'' E12°38' 38,5''	869	4x	9.5.2007	¶
43	5942	Starý Dvůr	28. Tepelské vrchy; b – KaňoTeplé	bahniště v zatáčce nad Bečovem směrem na Starý Dvůr	cca 1 km Z od Bečova nad Teplou	N50°05' 00,7'' E12°49' 15,0''	518	2x+4x	9.5.2007	¶
44	5943	Bečov	28. Tepelské vrchy; b – Kaňon Teplé	potok za jižním krajem Bečova nad Teplou	cca 17 km J od Karlových Var	N50°04' 46,2'' E12°50' 18,8''	447	4x	27.4.2008	¶
45	5944	Smilov	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	u potoka mezi obcemi Smilov a Radyně	cca 4 km V od Toužim	N50°03' 39,0'' E13°03' 00,2''	598	2x	5.4.2007	¶
46	5945	Chyše	28. Tepelské vrchy; e – Žlutická pahorkatina	potok u Chyše	cca 1 km JV od Chyše	N50°06' 32,9'' E13°16' 25,7''	487	2x	5.4.2007	¶
47	5946	Odlezly	30. Jesenicko-rakovnická plošina; a – Jesenická plošina	potok v obci Odlezly	cca 5 km S od Mladotic	N50°01' 16,1'' E13°22' 13,9''	433	2x	8.5.2007	¶



48	5947	Svatý Hubert	30. Jesenicko-rakovnická plošina; a – Jesenická plošina	potůček u mostu cca 0,5km V od obce Svátý Hubert	cca 12km S od Kralovic	N50°04' 14,0'' E13°31' 13,5''	532	2x	8.5.2007	¶
49	5948	Panoší Újezd	32. Křivoklátsko	potok v obci Panoší Újezd	cca 7 km J od Rakovníka	N50°02' 08,3'' E13°43' 05,3''	451	2x	8.5.2007	¶
50	5949	Roztoky	32. Křivoklátsko	potok mezi obcemi Roztoky a Karlova Ves	cca 2 km J od Roztok	N50°01' 01,2'' E13°51' 47,6''	252	2x	10.5.2007	¶
51	5950	Dolní Podkozí	32. Křivoklátsko	potok v obci Dolní Podkozí	cca 13 km SV od Berouna	N50°03' 07,9'' E14°07' 26,4''	304	2x	10.5.2007	¶
52	5954	Babice	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	potok v lese mezi obcemi Babice a Březí	cca 3 km V od Říčan	N50°00' 33,5'' E14°42' 25,9''	403	2x	12.4.2007	¶
53	5955	Krupá	64. Říčanská plošina; c – Černokostecký perm	potok u mostu mezi Kostelcem a Krupou	cca 2 km S od Kostelce nad Černými Lesy	N50°00' 09,0'' E14°52' 03,9''	367	2x	12.4.2007	¶
54	5958	Selmice	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	potok západně u obce Selmice	cca 12 km Z od Přelouče	N50°02' 59,1'' E15°26' 04,5''	209	2x	18.4.2008	¶
55	5959	Veselí	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	potok v obci Veselí	cca 5 km JV od Přelouče	N50°00' 26,0'' E15°37' 18,3''	232	2x	18.4.2008	¶
56	5962	Rousínov	61. Dolní Poorličí; c – Chvojenská plošina	hájek u potoka mezi obcemi Rousínov a Prochody	cca 8 km SZ od Chocně	N50°02' 45,7'' E16°07' 53,4''	280	2x	10.4.2008	¶
57	5963	Kostecké Horky	61. Dolní Poorličí; b – Tyništský úval	potok u rybníka na Z kraji obce Kostecké Horky	cca 7 km S od Chocně	N50°03' 04,8'' E16°11' 55,4''	296	2x	10.4.2008	¶
58	6041	Jedlová	26. Český les	hájek východně u obce Jedlová	cca 4 km J od Lázní Kynžvart	N49°58' 31,0'' E12°35' 31,2''	596	4x	9.5.2007	¶
59	6042	Pístov	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	hájek u křižovatky mezi obcemi Dolní Kramolín a Pístov	cca 6 km S od Plané	N49°54' 55,3'' E12°45' 28,0''	511	2x+ 4x	9.5.2007	¶
60	6043	Hanov	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	močálišť u silnice mezi Hanovem a Křepkovicemi	cca 5 km J od Teplé	N49°55' 49,4'' E12°52' 37,5''	683	4x	9.5.2007	¶
61	6044	Chudeč	28. Tepelské vrchy; d – Toužimská vrchovina	potok mezi obcemi Dolní Jamné a Chudeč	cca 3 km J od Bezděrova	N49°58' 25,6'' E13°04' 04,8''	641	2x	5.4.2007	¶
62	6045	Lipí	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potoky u křižovatky, odbočka na Lipí	cca 1,5 km J od Manětína	N49°58' 38,1'' E13°14' 39,3''	436	2x+ 3x+ 4x	5.4.2007	*⊗¶
63	6046	Mladotice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok u Mladotic	cca 1,5 km J od Mladotic	N49°58' 26,3'' E13°21' 46,3''	322	2x	3.5.2007	¶

64	6047	Kralovice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok u silnice č. 201 u Kralovic	cca 1 km V od Kralovic	N49°58' 15,7'' E13°30' 38,7''	406	2x	3.5.2007	¶
65	6048	Terešovská huť	32. Křivoklátsko	potok u Terešovské huti	cca 10 km SZ od Zbirohu	N49°54' 35,6'' E13°42' 13,2''	362	4x	3.5.2007	¶
66	6049	Karlova Ves	32. Křivoklátsko	potok u S kraj obce Karlova Ves u odbočky na Branov	cca 5 km J od Roztok	N49°59' 31,8'' E13°51' 39,3''	419	2x	3.5.2007	¶
67	6050	Králův Dvůr	8. Český kras	potok v obci Králův Dvůr	cca 3 km J od Berouna	N49°56' 32,1'' E14°02' 41,9''	234	2x	10.5.2007	¶
68	6051	Dolní Roblín	8. Český kras	potok u křižovatky mezi Trněným Újezdem a Dolním Roblínem	cca 6 km S od Řevnice	N49°57' 55,7'' E14°13' 17,9''	344	2x	10.5.2007	¶
69	6052	Libeň	64. Říčanská plošina; a – Průhonická plošina	bahniště u potoka v obci Libeň	cca 3 km J od Dolních Břežan	N49°56' 11,1'' E14°28' 24,3''	352	2x	10.5.2007	¶
70	6053	Průhonický park	64. Říčanská plošina; a – Průhonická plošina	potok a rybník v Průhonickém parku	cca 6 km JV od Prahy	N49°59' 25,0'' E14°33' 18,0''	307	2x	12.4.2007	¶
71	6054	Jevany	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	potok u mostku v lese mezi obcemi Struhařov a Jevany	cca 8 km JZ od Kostelce nad Černými Lesy	N49°57' 24,9'' E14°45' 55,6''	473	2x	12.4.2007	¶
72	6055	Prusice	64. Říčanská plošina; c – Černokostecký perm	potok mezi Prusicemi a Nučicemi	cca 4 km J od Kostelce n. Č.L.	N49°57' 47,2'' E14°53' 01,7''	295	2x	12.4.2007	¶
73	6056	Jindice	66. Hornosázavská pahorkatina	potok v obci Jindice	cca 5 km J od Bečvář	N49°54' 43,2'' E15°05' 03,0''	412	2x	5.5.2007	¶
74	6057	Bylany	65. Kutnohorská pahorkatina	potok mezi obcemi Nová Lhota a Bylany	cca 5 km JZ od Kutné Hory	N49°55' 32,3'' E15°12' 38,6''	338	2x	10.4.2008	¶
75	6059	Zbyslavce	69. Železné hory; b – Sečská vrchovina	potok v obci Zbyslavce	cca 8 km JZ od Heřmanova městce	N49°54' 13,1'' E15°35' 13,0''	513	2x	18.4.2008	¶
76	6060	Zbyhněvice	69. Železné hory; b – Sečská vrchovina	potok S od obce Zbyhněvice	cca 9 km JZ od Chrudimy	N49°54' 09,5'' E15°42' 48,9''	399	2x	10.4.2008	¶
77	6063	Zaháj	62. Litomyšlská pánev	potok V od obce Zaháj	cca 4 km J od Chocně	N49°57' 23,8'' E16°13' 28,9''	273	2x	10.4.2008	¶
78	6141	Břeží	27. Tachovská brázda	potok v obci Břeží	cca 8 km JZ od Plané	N49°50' 22,2'' E12°38' 10,3''	535	4x	5.5.2007	¶
79	6142	Planá	27. Tachovská brázda	Hamerský potok před Planou	cca 0,5 km Z od Plané	N49°51' 43,6'' E12°43' 05,2''	474	4x	5.5.2007	¶
80	6143	Lestkov	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	močaliště v zatáčce mezi obcemi Lestkov a Domaslav	cca 12 km V od Plané	N49°52' 49,5'' E12°53' 00,6''	566	4x	5.4.2007	¶

81	6144	Hvoždany	28. Tepelské vrchy; f – Svojsínská pahorkatina	potok u Hvoždán	cca 2 km Z od Úněšova	N49°52' 34,4'' E13°07' 49,8''	510	2x	5.4.2007	¶
82	6145	Kokořov	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok severně od Kokořova	cca 10 km Z od Třemošné	N49°50' 19,4'' E13°16' 06,7''	440	2x	5.4.2007	¶
83	6146	Jarov	32. Křivoklátsko	potok mezi obcemi Jarov a Chotinná	cca 17 km J od Kralovic	N49°51' 40,2'' E13°28' 43,8''	300	4x	6.5.2007	¶
84	6147	Kamenec	32. Křivoklátsko	potok u křižovatky mezi obcemi Kamenec, Svinná a Mostiště	cca 5 km S od Radnice	N49°52' 56,2'' E13°36' 44,8''	360	2x+ 4x	6.5.2007	¶
85	6148	Přisednice	32. Křivoklátsko	potok mezi obcemi Přisednice a Třebnuška	cca 3 km SZ od Zbirohu	N49°52' 50,4'' E13°44' 01,1''	367	4x	6.5.2007	¶
86	6149	Pod Hrází	32. Křivoklátsko	potok v obci Pod Hrází	cca 1 km S od Žebráku	N49°53' 48,3'' E13°53' 23,5''	303	2x	6.5.2007	¶
87	6150	Nesvačily	8. Český kras	potok v obci Nesvačily	cca 4 km JZ od Litně	N49°52' 54,2'' E14°07' 28,5''	320	2x	6.5.2007	¶
88	6151	Čisovice	41. Střední Povltaví	potok v obci Čisovice	cca 3 km V od Mníšku po Brdy	N49°51' 20,1'' E14°19' 13,3''	362	2x	6.5.2007	¶
89	6152	Štěchovice	41. Střední Povltaví	potok jižně od Štěchovic u silnice č. 106	cca 2 km J od Štěchovic	N49°50' 24,6'' E14°24' 12,7''	236	2x	6.5.2007	¶
90	6153	Čakovice	64. Říčanská plošina; b – Jevanská plošina	potok u silnice č. 107 mezi obcemi Kamenice a Čakovice	cca 1 km J od Kamenice	N49°53' 11,2'' E14°34' 58,4''	308	2x	12.4.2007	¶
91	6154	Soběhrdy	41. Střední Povltaví	hájek SV od Soběhrd u odbočky na Vranou Lhotu	cca 1 km SV od Soběhrd	N49°49' 41,0'' E14°44' 52,5''	389	2x	12.4.2007	¶
92	6155	Sázava	41. Střední Povltaví	potok mezi obcemi Dojetřice a Sázava	cca 1 km od Sázavy	N49°51' 45,3'' E14°53' 02,9''	351	2x	12.4.2007	¶
93	6156	Čestín	66. Hornosázavská pahorkatina	bahniště nad rybníkem v obci Čestín	cca 8 km S od Zruče nad Sázavou	N49°48' 32,6'' E15°06' 04,7''	452	4x	12.4.2007	¶
94	6157	Chlístovice	66. Hornosázavská pahorkatina	potok u mlýnu Sion u obce Chlístovice	cca 10 km JZ od Kutné Hory	N49°53' 08,1'' E15°12' 42,5''	363	4x	10.4.2008	¶
95	6158	Kamenné mosty	65. Kutnohorská pahorkatina	potok v obci Kamenné mosty	cca 10 km JV od Čáslavi	N49°51' 45,6'' E15°29' 43,0''	210	2x+ 4x	18.4.2008	¶
96	6159	Seč	69. Železné hory; b – Sečská vrchovina	potůček vtékající do přehrady Seč V od Leškovy Hůrky	cca 15 km S od Chotěboře	N49°49' 31,0'' E15°38' 18,1''	474	4x	12.4.2008	¶
97	6160	Kovářov	69. Železné hory; b – Sečská vrchovina	potok pod rybníkem mezi obcemi Kovářov a Seč	cca 16 km JZ od Chrudimy	N49°51' 04,0'' E15°40' 38,9''	444	2x	10.4.2008	¶
98	6161	Ležáky	69. Železné hory; b – Sečská vrchovina	potok v bývalé obci Ležáky	cca 9 km S od Hlinska	N49°49' 58,5'' E15°54' 06,1''	397	2x	12.4.2008	¶
99	6162	Bílý kůň	15. Východní Polabí; c – Pardubické Polabí	potok V od obce Bílý kůň	cca 10 km SV od Skutče	N49°52' 30,7'' E16°04' 58,4''	229	2x	11.4.2008	¶

100	6163	Višňáry	62. Litomyšlská pánev	potok mezi obcemi Rikovice a Višňáry	cca 3 km Z od Litomyšle	N49°52' 07,4'' E16°15' 32,7''	326	2x	11.4.2008	☐
101	6241	Velký Rapotín	27. Tachovská brázda	potok v obci Velký Rapotín	cca 3,5 km J od Tachova	N49°45' 59,2'' E12°39' 01,1''	500	4x	7.5.2007	☐
102	6242	Trnová	27. Tachovská brázda	potok v obci Trnová	cca 4 km JV od Tachova	N49°46' 40,0'' E12°41' 22,2''	471	4x	7.5.2007	☐
103	6243	Svojšín	28. Tepelské vrchy; f – Svojšínská pahorkatina	potok v obci Svojšín	cca 7 km Z od Stříbra	N49°46' 07,7'' E12°55' 06,1''	392	4x	7.5.2007	☐
104	6244	Sytno	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	strouha před rybníkem o obce Sytno, silnice 605	cca 4 km V od Stříbra	N49°44' 39,6'' E13°03' 11,9''	422	2x	7.5.2007	⊗
105	6245	Kozolupy	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Kozolupy, před železničním mostem	cca 8 km Z od Plzně	N49°45' 43,0'' E13°14' 18,3''	353	4x	7.5.2007	⊗
106	6247	Habr	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	potok u rybníka u obce Habr	cca 7 km SV od Rokycan	N49°47' 13,4'' E13°38' 33,2''	447	4x	7.5.2007	☐
107	6248	Hůrky I	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	potok u obce Hůrky	cca 6 km V od Rokycan	N49°44' 44,1'' E13°40' 22,1''	425	4x	7.5.2007	☐
108	6249	Sádek	35. Podbrdsko; c – Příbramské Podbrdsko	bahniště u potoka mezi obcemi Sádek a Lhota u Příbrami	cca 4 km S od Příbrami	N49°43' 53,5'' E13°58' 58,2''	480	4x	7.5.2007	⊗
109	6250	Drátovna	35. Podbrdsko; c – Příbramské Podbrdsko	močálišťe u obce Drátovna	cca 4 km S od Příbrami	N49°43' 35,6'' E14°01' 01,7''	449	2x	7.5.2007	⊗
110	6251	Daleké Dušníky	41. Střední Povltaví	potok v obci Daleké Dušníky	cca 6 km J od Dobříše	N49°43' 38,7'' E14°11' 02,4''	389	2x	10.4.2007	☐
111	6252	Chotilsko	41. Střední Povltaví	potok v obci Chotilsko	cca 5 km V od Nového Mlýna	N49°46' 15,4'' E14°21' 07,8''	340	2x	10.4.2007	☐
112	6253	Borovka	41. Střední Povltaví	rybník u obce Borovka	cca 3 km S od Neveklova	N49°46' 08,7'' E14°31' 38,5''	379	2x+4x	10.4.2007	☐
113	6254	Hlíňanky	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	potok s hájkem u sil.111 mezi obcemi Hlíňanky a Líšno	cca 6 km J od Benešova	N49°44' 32,8'' E14°43' 20,3''	405	2x+3x	12.4.2007	☐
114	6255	Bílkovice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok v obci Bílkovice	cca 7 km S od obce Vlašim	N49°45' 34,1'' E14°52' 16,9''	335	4x	12.4.2007	☐
115	6256	Trhový Štěpánov	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	Trhový Štěpánov - Štěpánovský potok u nádrží	cca 9 km V od obce Vlašim	N49°42' 29,8'' E15°00' 30,9''	381	4x	10.4.2007	☐

116	6257	Hamry	66. Hornosázavská pahorkatina	potok v obci Hamry	cca 2 km S od Ledče nad Sázavou	N49°43' 02,3'' E15°16' 50,9''	385	4x	13.4.2008	☐
117	6258	Kunemil	66. Hornosázavská pahorkatina	potok v obci Kunemil	cca 4 km S od Světlé nad Sázavou	N49°42' 24,0'' E15°25' 55,0''	475	4x	13.4.2008	☐
118	6259	Klouzovy	66. Hornosázavská pahorkatina	potok u obce Klouzovy	cca 4 km SZ od Chotěboře	N49°44' 05,7'' E15°37' 07,9''	519	4x	12.4.2008	☐
119	6260	Jeníkovec	65. Kutnohorská pahorkatina	potok v obci Jeníkovec	cca 5 km S od Chotěboře	N49°46' 02,6'' E15°41' 34,2''	420	2x+4x	12.4.2008	☐
120	6261	Kameničky	91. Žďárské vrchy	potok mezi obcemi Kameničky a Svratka	cca 8 km JV od Hlinska	N49°42' 59,9'' E15°59' 10,8''	638	4x	12.4.2008	☐
121	6262	Cetkytle	91. Žďárské vrchy	potok u silnice č. 34 SZ od obce Cetkytle	cca 10 km SZ od Poličky	N49°45' 05,2'' E16°08' 17,4''	654	2x	11.4.2008	☐
122	6263	Třemošná	63. Českomoravské meziohří; e – Poličsko	potok mezi obcemi Třemošná a Střítež	cca 5 km S od Poličky	N49°45' 06,5'' E16°14' 27,8''	481	3x	11.4.2008	☐
123	6342	Borek	27. Tachovská brázda	potok v obci Borek	cca 7 km SV od Bělé nad Radbuzou	N49°38' 02,3'' E12°46' 33,3''	466	4x	2.5.2007	☐
124	6343	Darmyšl	28. Tepelské vrchy; g – Sedmihoří	potok u Mezholezského rybníka, mezi obcemi Mezholezy a Darmyšl	cca 16 km JZ od Stříbra	N49°37' 53,9'' E12°54' 21,2''	441	2x	2.5.2007	☐
125	6344	Hradišřany	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok podél rybníka v obci Hradišřany	cca 11 km Z od Stodu	N49°37' 49,3'' E13°01' 55,4''	402	2x	2.5.2007	☐☐
126	6345	Stod	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Stod - Merklínka	cca 15 km JZ od Plzně	N49°38' 13,3'' E13°10' 10,4''	335	4x	2.5.2007	☐☐
127	6346	Předenice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok a stoka v obci Předenice	cca 10 km SV od Přestic	N49°37' 30,2'' E13°23' 30,1''	371	4x	2.5.2007	☐
128	6347	Kornatice	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	potok v obci Kornatice	cca 8 km J od Rokycan	N49°39' 35,7'' E13°35' 40,0''	415	4x	3.5.2007	☐
129	6348	Strnadův mlýn	35. Podbrdsko; a – Holoubkovské Podbrdsko	Skořický potok u Strnadova Mlýna	cca 10 km JV od Rokycan	N49°40' 49,1'' E13°41' 19,2''	469	4x	3.5.2007	☐
130	6349	Láz	35. Podbrdsko; d – Březnické Podbrdsko	potok u silnice č. 18 u odbočky na obec Láz	cca 6 km JZ od Příbrami	N49°39' 01,3'' E13°56' 03,8''	555	4x	3.5.2007	☐☐
131	6350	Višňová	41. Střední Povltaví	potok jižně od obce Višňová	cca 9 km V od Příbrami	N49°41' 53,6'' E14°08' 38,5''	420	2x	4.5.2007	☐☐
132	6351	Chvojná	41. Střední Povltaví	potok v obci Chvojná u bus zastávky	cca 14 km JV od Příbrami	N49°39' 23,6'' E14°11' 07,1''	368	2x	4.5.2007	☐

133	6352	Vysoký Chlumec	41. Střední Povltaví	mokřina u vodárny mezi obcemi Vysoký Chlumec a Hrabří	cca 7 km J od Sedlčan	N49°37' 28,6'' E14°22' 06,6''	487	2x	4.5.2007	☐
134	6353	Vojtkov	42. Votická pahorkatina; a – Sedlčansko-milevská pahorkatina	potok jižně od obce Vojtkov	cca 7 km V od Votic	N49°38' 57,5'' E14°31' 29,7''	432	2x+4x	12.4.2007	☐
135	6354	Hráze	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok pod rybníkem v obci Hráze	cca 6 km JV od Votic	N49°37' 07,4'' E14°41' 10,9''	581	4x	12.4.2007	☐
136	6355	Kuňovice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok u silnice č. 112 mezi obcemi Kuňovice a Bolina	cca 5 km JV od Vlašimi	N49°40' 27,4'' E14°57' 30,9''	486	4x	12.4.2007	☐
137	6356	Borovnice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	výpust' u rybníka Valcha J od obce Borovnice	cca 10 km JV od Vlašimi	N49°38' 35,5'' E15°01' 07,4''	442	4x	10.4.2007	☐
138	6357	Vilémovice	66. Hornosázavská pahorkatina	potok mezi obcemi Vilémovice a Ostrov	cca 2,5 km V od Ledče nad Sázavou	N49°41' 37,1'' E15°18' 36,9''	401	4x	13.4.2008	☐
139	6358	Kejžlice	67. Českomoravská vrchovina	přítok do rybníka Kamenná Trouba S od obce Kejžlice	cca 6 km J od Světlé nad Sázavou	N49°36' 17,7'' E15°22' 58,8''	455	4x	13.4.2008	☐
140	6359	Rozsochatec	66. Hornosázavská pahorkatina	potok S od obce Rozsochatec	cca 5 km J od Chotěboře	N49°40' 53,9'' E15°38' 22,5''	489	4x	13.4.2008	☐
141	6360	Macourov	66. Hornosázavská pahorkatina	potok na křižovatce mezi obcemi Železné Horky a Macourov	cca 5 km S od Přibyslavi	N49°37' 19,6'' E15°44' 02,2''	490	4x	12.4.2008	☐
142	6361	Cikháj	91. Žďárské vrchy	rašeliniště u potoka S od obce Cikháj	cca 12 km S od Žďáru nad Sázavou	N49°39' 28,9'' E15°58' 16,4''	668	3x+2x	12.4.2008	☐
143	6362	Kuklík	91. Žďárské vrchy	potok J od obce Kuklík	cca 20 km JZ od Poličky	N49°37' 32,4'' E16°06' 37,1''	640	4x	11.4.2008	☐
144	6363	Telecí	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Telecí	cca 9 km JZ od Poličky	N49°41' 37,5'' E16°10' 51,8''	550	4x	11.4.2008	☐
145	6441	Karlova Huť	26. Český les	potok s hájkem u silnice č. 197 mezi Železnou a Karlovou Hutí	cca 7 km V od Bělé na Radbuzou	N49°35' 01,1'' E12°37' 27,1''	538	4x	2.5.2007	☐
146	6442	Štitary	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Štitary	cca 9 km SZ od Horšovského Týna	N49°33' 58,6'' E12°49' 05,3''	380	4x	2.5.2007	☐
147	6443	Srby	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Srby	cca 5 km Z od Horšovského Týna	N49°32' 11,9'' E12°52' 12,7''	391	2x+4x	2.5.2007	☐

148	6444	Vytůň	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	cesta k Vytůni - potůčky u rybníka	cca 1,5 km V odd Staňkova	N49°33' 22,5'' E13°06' 06,4''	388	2x+4x	3.5.2007	☐
149	6445	Hráz	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Hráz	cca 4 km J od Merklína	N49°31' 34,7'' E13°10' 13,8''	398	4x	3.5.2007	☐
150	6446	Renče	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok v obci Renče	cca 6 km V od Přeštic	N49°33' 43,9'' E13°24' 40,9''	314	2x	3.5.2007	☐
151	6447	Vlčice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok a Úslava v obci Vlčice	cca 1 km J od Blovic	N49°34' 11,9'' E13°32' 46,9''	388	4x	3.5.2007	☐
152	6448	Hvožd'any	87. Brdy	potok u silnice č. 176 mezi obcemi Vacíkov a Hvožd'any	cca 10 km V od Březnice	N49°32' 13,6'' E13°49' 16,6''	543	4x	3.5.2007	☐
153	6449	Vacíkov	87. Brdy	potůček v lesíku u silnice č.176 mezi obcí Vacíkov a odbočkou na Volenice	cca 7 km V od Březnice	N49°32' 24,3'' E13°51' 58,1''	559	4x	3.5.2007	☐☐
154	6450	Podholušice	41. Střední Povltaví	potok u obce Podholušice	cca 15 km J od Příbrami	N49°34' 07,6'' E14°06' 41,5''	492	2x	11.5.2007	☐☐
155	6451	Žebrákov	41. Střední Povltaví	potok mezi obcemi Žebrákov a Hájek	cca 14 km SV od Milevska	N49°31' 26,5'' E14°13' 42,5''	472	2x	11.5.2007	☐
156	6452	Natějkov	43. Votická vrchovina; a – Čertovo břemeno	potok u silnice č. 123 mezi obcemi Natějkov a Květuš	cca 10 km SZ od Milevska	N49°30' 54,2'' E14°27' 26,9''	528	4x	11.5.2007	☐
157	6453	Střeziměř	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok mezi obcemi Borotí a Střeziměř	cca 5 km SZ od Sudoměřic u Tábora	N49°31' 04,4'' E14°36' 29,3''	559	4x	12.5.2007	☐
158	6454	Vítanovice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	bahniště u rybníka v obci Vítanovice	cca 8 km SZ od Mladé Vožice	N49°35' 05,1'' E14°45' 28,9''	435	4x	12.5.2007	☐
159	6455	Těchobuz	67. Českomoravská vrchovina	potok u rybníka SZ od Těchobuzí	cca 9 km SZ od Pacova	N49°31' 04,9'' E14°55' 11,7''	538	4x	2.3.2008	☐
160	6456	Košetice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok pod rybníkem u silnice č. 112 u Košetic	cca 15 km SZ od Pelhřimova	N49°33' 49,5'' E15°06' 38,3''	473	4x	29.2.2008	☐
161	6457	Hojanovice	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Hojanovice	cca 11 km J od Ledče nad Sázavou	N49°35' 51,0'' E15°15' 55,7''	462	4x	13.4.2008	☐
162	6458	Skála	67. Českomoravská vrchovina	potok ve vsi Skála	cca 5 km SV od Humpolce	N49°33' 27,3'' E15°26' 25,8''	523	4x	13.4.2008	☐



163	6459	Suchá	66. Hornosázavská pahorkatina	bahniště mezi rybníky v obci Suchá	cca 4 km J od Havlíčkova Brodu	N49°33' 23,6'' E15°34' 28,9''	492	4x	13.4.2008	☐
164	6460	Ronov	66. Hornosázavská pahorkatina	přítok Svratky v obci Ronov nad Sázavou	cca 2 km V od Příbyslavi	N49°34' 15,4'' E15°46' 07,5''	457	4x	12.4.2008	☐
165	6461	Zámek	91. Žďárské vrchy	potok mezi rybníky v obci Zámek	cca 1 km S od Žďáru nad Sázavou	N49°34' 51,1'' E15°56' 09,3''	575	4x	12.4.2008	☐
166	6462	Divišov	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Divišov	cca 7 km od Nového Města na Moravě	N49°32' 54,6'' E16°09' 31,3''	574	4x	11.4.2008	☐
167	6463	Dalečín	67. Českomoravská vrchovina	bahniště u silnice v obci Dalečín	cca 9 km od Bysřice nad Pernštejnem	N49°35' 29,2'' E16°14' 10,5''	491	4x	11.4.2008	☐
168	6542	Pivoň	26. Český les	potok a močálišťe mezi obcemi Pivoň a Mnichov	cca 4 km JZ od Poběžovic	N49°29' 09,3'' E12°45' 48,7''	512	4x	12.5.2007	☐
169	6543	Nový Hamr	27. Tachovská brázda	potok u silnice č. 195 SZ od obce Novým Hamr	cca 6 km JZ od Domažlic	N49°26' 00,1'' E12°50' 22,8''	444	2x+ 4x	12.5.2007	☐
170	6544	Radonice	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok V od obce Radonice	cca 6 km SV od Domažlic	N49°27' 31,2'' E13°00' 23,6''	404	4x	11.5.2008	☐
171	6545	Trnčí	33. Branžovský hvozd	bahniště u rybníka v obci Trnčí	cca 10 km SZ od Klatov	N49°28' 41,2'' E13°12' 43,3''	488	4x	12.5.2007	☐
172	6546	Měcholupy	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok pod rybníkem v obci Měcholupy	cca 7 km SV od Klatov	N49°26' 28,6'' E13°22' 28,4''	410	4x	12.5.2007	☐
173	6547	Pohankův mlýn	34. Plánický hřeben	potok u Pohankůva mlýna	cca 3 km J od Nepomuku	N49°27' 11,1'' E13°36' 31,5''	367	4x	12.5.2007	☐
174	6548	Hradiště	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	potok a bahniště J od obce Hradiště	cca 9 km V od Blatné	N49°26' 10,2'' E13°45' 17,5''	492	4x	13.5.2007	☐
175	6549	Hoštišovice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	potok pod rybníkem JZ od obce Hoštišovice	cca 8 km S od Blatné	N49°29' 09,4'' E13°55' 27,4''	495	4x	13.5.2007	☐
176	6550	Krsice	35. Podbrdsko; d – Březnické Podbrdsko	ostrůvek u jezu v obci Krsice	cca 2 km S od Čimelice	N49°29' 04,5'' E14°04' 28,7''	414	4x	13.5.2007	☐
177	6551	Sobědraž	41. Střední Povltaví	potok nad hasičskou nádrží v obci Sobědraž	cca 10 km Z od Milevska	N49°28' 23,7'' E14°14' 27,2''	449	2x	13.5.2007	☐
178	6552	U Krajců	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok v obci U Krajců	cca 7 km JV od Milevska	N49°24' 46,7'' E14°26' 13,3''	414	4x	13.5.2007	☐
179	6553	Vlásenice	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok u mlýna v obci Vlásenice	cca 7 km SZ od Tábora	N49°27' 54,6'' E14°33' 58,5''	517	2x	13.5.2007	☐

180	6554	Vřesce	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potok v obci Vřesce	cca 5 km SV od Táboru	N49°26' 51,9'' E14°45' 13,7''	449	4x	13.5.2007	¶
181	6555	Obrataň	67. Českomoravská vrchovina	potok Z u obce Obrataň u železniční trati, u silnice č. 19	cca 8 km JZ od Pacova	N49°25' 35,4'' E14°56' 18,5''	585	4x	2.3.2008	¶
182	6556	Bořetice	67. Českomoravská vrchovina	potok mezi obcemi Bořetice a Útěchovičky	cca 13 km SZ od Pelhřimova	N49°28' 27,2'' E15°05' 55,6''	515	4x	2.3.2008	¶
183	6557	Pelhřimov	67. Českomoravská vrchovina	přítok Bělé na jižním okraji Pelhřimova	Pelhřimov	N49°24' 38,5'' E15°13' 29,9''	517	4x	9.3.2008	¶
184	6558	Vyskytná	67. Českomoravská vrchovina	potok u silnice č. 602 u odb. na Vyskytnou	cca 10 km V od Pelhřimova	N49°25' 37,6'' E15°22' 56,4''	612	4x	9.3.2008	¶
185	6559	Plandry	67. Českomoravská vrchovina	Bělokámský potok mezi obcemi Plandry a Vyskytná nad Jihlavou	cca 4 km SZ od Jihlavy	N49°25' 14,9'' E15°31' 42,9''	557	4x	9.3.2008	¶
186	6560	Rytířsko	67. Českomoravská vrchovina	potok u rybníka V u obce Rytířsko	cca 8 km V od Jihlavy	N49°25' 48,9'' E15°42' 43,9''	534	4x	28.3.2008	¶
187	6561	Černá	67. Českomoravská vrchovina	potok u rybníka J u obce Černá	cca 10 km SZ od Velkého Meziříčí	N49°25' 18,3'' E15°51' 45,5''	517	4x	28.3.2008	¶
188	6562	Mirošov	67. Českomoravská vrchovina	potůček v obci Mirošov	cca 14 km J od Nového města na Moravě	N49°27' 52,7'' E16°09' 00,8''	500	2x	28.3.2008	¶
189	6563	Dolní Libochová	67. Českomoravská vrchovina	potůček v obci Dolní Libochová	cca 6 km SV od Křižanova	N49°24' 29,1'' E16°10' 52,4''	484	4x	28.3.2008	¶
190	6564	Borač	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok na S kraji obce Borač	cca 8 km SZ od Tišnova	N49°24' 06,1'' E16°21' 16,5''	288	2x	28.3.2008	¶
191	6644	Pocinovice	33. Branžovský hvozď	potok u silnice č. 192 mezi obcemi Pocinovice a Nové Chalupy	cca 6 km JV od Kdyně	N49°21' 21,7'' E13°06' 50,3''	464	4x	11.5.2007	¶
192	6645	Rozpáralka	31 Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok u obce Rozpáralka	cca 8 km J od Klatov	N49°20' 31,0'' E13°14' 44,5''	362	4x	11.5.2007	¶
193	6646	Čihaň	34. Plánický hřeben	potok u silnice č. 187 u Čihaně	cca 12 km JV od Klatov	N49°20' 20,5'' E13°25' 56,3''	590	4x	12.5.2007	¶
194	6647	Černíč	36. Horažďovická pahorkatina; a – Horažďovicko	potok u silnice mezi obcemi Černíč a Vlkonice	cca 8 km Z od Horažďovic	N49°18' 37,0'' E13°35' 30,7''	465	4x	27.4.2007	¶
195	6648	Svéradice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Horažďovicko	hájek, močáliště severně od Svěradic	cca 11 km JZ od Blatné	N49°22' 38,7'' E13°44' 24,4''	467	4x	26.4.2007	¶
196	6649	Čekanice	36. Horažďovická pahorkatina; a – Blatensko	potok pod rybníkem v obci Čekanice	cca 5 km J od Blatné	N49°22' 37,6'' E13°53' 09,8''	532	4x	26.4.2007	¶
197	6650	Topělec	41. Střední Povltaví	potok v lese mezi obcemi Topělec a Borečnice	cca 4 km S od Písku	N49°21' 04,2'' E14°08' 10,4''	385	2x	26.4.2007	¶

198	6651	Podolsko	41. Střední Povltaví	potok za pumpou u Podolska, u odbočky na Olešnou	cca 6 km Z od Bernartice	N49°21' 22,6'' E14°17' 34,4''	415	2x	26.4.2007	☐
199	6652	Rataje	42. Votická pahorkatina; b – Tábořsko-vlašimská pahorkatina	potůček v lese před odb. Rataje, mezi Bernartice a Radětice	cca 4 km SZ od Bechyně	N49°20' 39,1'' E14°25' 14,8''	470	2x	27.4.2007	☐
200	6654	Turovec	39. Třeboňská pánev	potok mezi obcemi Turovec a Dlouhá Lhota	cca 6 km J od Chýnova	N49°21' 50,8'' E14°47' 09,2''	403	4x	27.4.2007	☐
201	6655	U Cihelny	67. Českomoravská vrchovina	potok u Nového Mlýna u silnice č. 136 u obce U Cihelny	cca 3 km JZ od Černovic	N49°21' 07,6'' E14°55' 31,6''	527	4x	2.3.2008	☐
202	6656	Lidmaňka	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Lidmaňka	cca 16 km JZ od Pelhřimova	N49°23' 21,0'' E15°03' 08,4''	599	4x	2.3.2008	☐
203	6657	Bělá	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Bělá	cca 6 km S od Počátek	N49°18' 45,1'' E15°15' 41,5''	673	4x	9.3.2008	☐
204	6658	Nový Svět	67. Českomoravská vrchovina	přítok Jihlavy obci Nový Svět	cca 12 km JZ od Jihlavy	N49°20' 43,8'' E15°28' 09,7''	511	4x	9.3.2008	☐
205	6659	Puklice	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Puklice	cca 6 km JV od Jihlavy	N49°21' 46,4'' E15°39' 05,3''	512	4x	9.3.2008	☐
206	6660	Kamenice	67. Českomoravská vrchovina	potok u rybníka na V konci Kamenice	cca 15 km JV od Jihlavy	N49°21' 47,6'' E15°47' 34,8''	539	4x	9.3.2008	☐
207	6661	Měřín	67. Českomoravská vrchovina	potok mezi obcemi Měřín a Otín	cca 12 km Z od Velkého Meziříčí	N49°22' 23,2'' E15°53' 34,0''	512	4x	29.3.2008	☐
208	6662	Mostišťe	67. Českomoravská vrchovina	potůček v obci Mostišťe	cca 2 km S od Velkého Meziříčí	N49°22' 29,2'' E16°01' 01,0''	433	4x	29.3.2008	☐
209	6663	Níhov	67. Českomoravská vrchovina	potok u železniční zastávky Níhov	cca 14 km od Tišnova	N49°20' 08,7'' E16°16' 14,9''	444	2x	29.3.2008	☐
210	6664	Střemchoví	68. Moravské podhůří Vysočiny	potůček v obci Střemchoví	cca 4 km Z od Tišnova	N49°21' 43,1'' E16°22' 10,8''	297	4x	29.3.2008	☐
211	6744	Uhliště	31. Plzeňská pahorkatina; a – Plzeňská pahorkatina vlastní	potok mezi obcemi Svatá Kateřina a Uhliště	cca 5 km Z od Nýrska	N49°16' 40,5'' E13°05' 02,0''	526	4x	27.4.2007	☐
212	6745	Viteň	34. Plánický hřeben	hájek mezi obcemi Březí a Viteň	cca 15 km J od Klatov	N49°17' 06,6'' E13°16' 57,0''	561	4x	27.4.2007	☐
213	6746	Pích	34. Plánický hřeben	potok v obci Pích	cca 10 km Z od Sušice	N49°13' 56,4'' E13°25' 06,1''	608	4x	27.4.2007	☒
214	6747	Sušice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; c – Sušicko-horažďovické vápence	u Dobrušínského mlýnu u SV okraje Sušice	cca 14 km JZ od Horažďovic	N49°15' 14,5'' E13°33' 22,4''	492	4x	27.4.2007	☐

215	6748	Frymburk	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	potok u silnice č. 172 mezi obcemi Frymburk a Volenice	cca 9 km JZ od Katovic	N49°15' 20,1'' E13°43' 54,4''	489	4x	28.4.2007	☐
216	6749	Jinín	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	potok mezi Jinínem a Miloňovicemi	cca 6 km JV od Strakonice	N49°13' 25,8'' E13°58' 06,5''	451	4x	28.4.2007	☐
217	6750	Hůrky II	38. Budějovická pánev	potok v obci Hůrky	cca 6 km J od Písku	N49°15' 49,8'' E14°09' 21,2''	409	4x	28.4.2007	☐
218	6751	Kukle	38. Budějovická pánev	potok u silnice č. 159, bus zastávka Kukle	cca 6 km Z od Albrechtic nad Vltavou	N49°15' 06,7'' E14°14' 21,9''	406	2x	28.4.2007	☐
219	6752	Nezašov	41. Střední Povltaví	potok u silnice č. 159 mezi Újezdem a Nezašovem	cca 5 km Z od Týna nad Vltavou	N49°13' 55,0'' E14°21' 53,5''	377	2x	28.4.2007	☐
220	6754	Přebořov	39. Třeboňská pánev	potok v obci Přebořov	cca 3 km V od Soběslavi	N49°14' 45,4'' E14°45' 24,5''	423	4x	28.4.2007	☐
221	6755	Světky	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Světky	cca 15 km S od Jindřichova Hradce	N49°16' 25,5'' E14°56' 29,7''	517	4x	7.3.2008	☐
222	6756	Štítné	67. Českomoravská vrchovina	potok v lese mezi obcemi Štítné a Lítkovice	cca 6 km SV od Nové Včelnice	N49°15' 21,1'' E15°07' 58,7''	603	4x	7.3.2008	☐
223	6757	Panské Dubenky	67. Českomoravská vrchovina	Doubravský potok u Panských Dubenek	cca 5 km S od Studené	N49°13' 29,1'' E15°15' 46,2''	630	4x	7.3.2008	☐
224	6758	Nová Ves II	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Nová Ves	cca 13 km SZ od Telče	N49°16' 45,5'' E15°21' 15,8''	639	4x	10.3.2008	☐
225	6759	Stonařov	67. Českomoravská vrchovina	u Jihlávky u silnice č. 38 mezi obcemi Dlouhá Brtnice a Stonařov	cca 16 km J od Jihlavy	N49°15' 24,0'' E15°35' 34,8''	660	4x	10.3.2008	☐
226	6760	Pokojovice	67. Českomoravská vrchovina	potok mezi obcemi Pokojovice a Podheraltice	cca 10 km Z od Třebíče	N49°13' 12,2'' E15°43' 57,1''	519	4x	8.3.2008	☐
227	6761	Budíkovice	67. Českomoravská vrchovina	potok s mokřinou mezi obcemi Budíkovice a Trnava	cca 7 km S od Třebíče	N49°15' 45,4'' E15°54' 03,8''	476	2x	30.3.2008	☐
228	6762	Jedov	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok u odbočky na Jedov	cca 2 km S od Náměšti nad Oslavou	N49°13' 05,5'' E16°09' 15,3''	363	2x+4x	29.3.2008	☐
229	6763	Újezd u Rosic	67. Českomoravská vrchovina	potok na kraji lesa J od Újezdu u Rosic	cca 11 km SV od Náměšti nad Oslavou	N49°12' 57,5'' E16°15' 15,3''	240	2x	29.3.2008	☐
230	6764	Prádelna	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok mezi obcemi Nový Dvůr a Prádelna	cca 9 km S od Rosic	N49°15' 11,1'' E16°27' 31,4''	283	2x	29.3.2008	☐
231	6845 A	Železná Ruda I	88. Šumava; a – Královský hvoz	Železná Ruda potok pod pumpou	cca 25 km J od Nýrska	N49°08' 20,0'' E13°13' 39,2''	769	4x	28.4.2007	☐

232	6845 B	Železná Ruda II	88. Šumava; a – Královský hvozď	potůček v Železné Rudě u ledárny	cca 25 km J od Nýrsko	N49°08' 09,3'' E13°14' 09,4''	778	4x	28.4.2007	*⊗
233	6846	Prášíly	88. Šumava; b – Šumavské pláň	rašelinistiště u silnice mezi obcemi Srní a Prášíly	cca 14 km V od Železné Rudy	N49°06' 04,0'' E13°25' 21,7''	860	4x	29.4.2007	¶
234	6847	Nezdice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; c – Nezdické vápence	potok mezi obcemi Strašín a Nezdice	cca 13 km JV os Sušice	N49°10' 43,3'' E13°37' 27,8''	566	4x	29.4.2007	¶
235	6848	Čábuze	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	potok u obce Čábuze	cca 15 km JV od Kašperských hor	N49°06' 41,6'' E13°42' 22,3''	563	4x	29.4.2007	¶
236	6849	Tvrzice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	potok u silnice mezi obcemi Dub a Tvrzice (u Lipovického mlýna)	cca 10 km JV od Volyně	N49°06' 38,4'' E13°59' 03,1''	514	4x	29.4.2007	¶
237	6850	Pískovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; e – Volyňské Předšumaví	potůčky mezi obcemi Pítkovice a Bílsko	cca 14 km Z od Vodňan	N49°10' 05,4'' E14°04' 24,4''	517	4x	29.4.2007	¶
238	6851	Těšínov	40. Jihočeská pahorkatina; a – Písecko-hlubocký hřeben	potok podél silnice na konci obce Těšínov	cca 15 km JZ od Týna nad Vltavou	N49°11' 22,2'' E14°16' 20,1''	428	2x	29.2.2008	¶
239	6852	Litohradice	40. Jihočeská pahorkatina; a – Písecko-hlubocký hřeben	potok v obci Litohradice	cca 7 km J od Týna nad Vltavou	N49°10' 20,5'' E14°25' 14,0''	430	2x	29.2.2008	¶
240	6855	Buk	39. Třeboňská pánev	rybník v obci Buk	cca 4 km JZ od Jindřichova Hradce	N49°07' 56,1'' E14°57' 47,0''	482	4x	29.4.2007	¶
241	6857	Strmilov	67. Českomoravská vrchovina	hájek u potoka cca 1 km jižně od Strmilova	cca 15 km V od Jindřichova Hradce	N49°09' 00,1'' E15°11' 35,0''	547	4x	8.3.2008	¶
242	6858	Řečice	67. Českomoravská vrchovina	hájek u potoka severně u Řečice	cca 8 km JZ od Telče	N49°08' 30,7'' E15°22' 20,9''	550	4x	8.3.2008	¶
243	6859	Krasnice	67. Českomoravská vrchovina	hájek u potoka mezi obcemi Krasnice a Nová Říše	cca 13 km JV od Telče	N49°07' 43,2'' E15°35' 55,8''	558	4x	10.3.2008	¶
244	6860	Bolíkovice	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Bolíkovice	cca 11 km S od Moravských Budějovic	N49°08' 09,4'' E15°46' 05,6''	482	2x	8.3.2008	¶
245	6861	Slavice	68. Moravské podhůří Vysočiny	výpust z rybníku v obci Slavice	cca 3 km J od Třebíče	N49°10' 24,0'' E15°52' 36,0''	484	2x	30.3.2008	¶
246	6862	Hrotovice	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok u silnice mezi obcemi Hrotovice a Slavětice	cca 20 km JV od Třebíče	N49°06' 13,1'' E16°04' 26,7''	383	2x	30.3.2008	¶

247	6863	Ketkovice	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok v hájku J od obce Ketkovice	cca 7 km SZ od Oslavan	N49°09' 13,6'' E16°16' 16,8''	419	2x	29.3.2008	¶
248	6947	Zhůří	88. Šumava; b – Šumavské pláně	rašeliniště u plotu za obcí Zhůří, u odbočky na Zlatou Studnu	cca 14 km J od Kašperských hor	N49°04' 57,5'' E13°33' 26,9''	1151	4x	30.4.2007	¶
249	6948	Brantlova pila	88. Šumava; d – Boubínsko - stožecká hornatina	potok u mostu Brantlova pila	cca 5 km J od Vimperka	N49°01' 29,2'' E13°45' 59,3''	793	4x	30.4.2007	¶
250	6949	Žárovná	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	potok u silnice č. 145 mezi obcemi Žárovná a Husinec	cca 9 km V od Vimperka	N49°03' 07,5'' E13°54' 33,6''	675	4x	30.4.2007	¶
251	6950	Vítějovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	potok v zatáčce mezi obcemi Žernovice a Vítějovice	cca 5 km SV od Prachatic	N49°02' 13,0'' E14°03' 05,6''	591	4x	30.4.2007	¶
252	6951	Podeřístě	38. Budějovická pánev	potok u obce Podeřístě	cca 3 km SV od Netolic	N49°03' 58,8'' E14°13' 57,4''	457	4x	30.4.2007	¶
253	6952 A	Blanský rybník	38. Budějovická pánev	v lese u Blanského rybníka u silnice č. 105	cca 4 km S od Hluboké nad Vltavou	N49°04' 18,9'' E14°24' 56,2''	407	2x	29.2.2008	¶
254	6952 B	Hluboká	38. Budějovická pánev	potok na východním konci obce Hluboká nad Vltavou	cca 5 km S od Českých Budějovic	N49°03' 22,2'' E14°27' 47,4''	393	4x	7.3.2008	¶
255	6953	Lhotice	40. Jihočeská pahorkatina; c – Lhotický perm	potok u silnice č. 146 u křižovatky s E55, Z od Lhotice	cca 5 km S od Českých Budějovic	N49°03' 13,6'' E14°31' 12,8''	480	4x	7.3.2008	¶
256	6955	Příbraz	39. Třeboňská pánev	potok cca 14 km S od Příbraz	cca 2,5 km V od Stráže nad Nežárkou	N49°03' 38,1'' E14°56' 14,2''	453	4x	13.4.2007	¶
257	6956	Sedlo	67. Českomoravská vrchovina	potok jižně u obce Sedlo	cca 7 km SZ od Nové Bystřice	N49°02' 37,5'' E15°02' 27,1''	497	4x	7.3.2008	¶
258	6957	Matějovec	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Matějovec	cca 10 km SZ od Slavonic	N49°03' 44,5'' E15°15' 48,1''	652	4x	7.3.2008	¶
259	6958	Dolní Bolíkov	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Dolní Bolíkov	cca 7 km J od Dačic	N49°02' 15,7'' E15°22' 20,7''	505	4x	8.3.2008	¶
260	6959	Chotěbuzice	67. Českomoravská vrchovina	potok u silnice č. 410 mezi obcemi Chotěbudice a Jemnice	cca 14 km JV od Dačic	N49°02' 36,0'' E15°34' 05,6''	449	4x	8.3.2008	¶
261	6960	Jackov	67. Českomoravská vrchovina	potok v obci Jackov	cca 3 km JZ od Moravských Budějovic	N49°02' 04,1'' E15°45' 56,3''	437	4x	8.3.2008	¶
262	6962	Litovany	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok v lese mezi obcemi Litovany a Újezd	cca 19 km S od Znojma	N49°02' 26,2'' E16°03' 01,8''	350	2x	30.3.2008	¶
263	7048	Horní Vltavice	88. Šumava; d – Boubínsko - stožecká hornatina	bahniště mezi obcemi Horní Vltavice a Kubova Huť	cca 10 km J od Vimperka	N48°58' 25,4'' E13°45' 43,4''	916	4x	13.4.2007	¶

264	7049	Volary	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	potok na severním okraji Volar ( směrem na Mlynářovice)		N48°55' 33,7'' E13°53' 31,2''	786	4x	13.4.2007	¶
265	7050	Prachatice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; h – Prachatické Předšumaví	potok u silnice č. 143 mezi Prachaticemi a Leptačí	cca 2 km JV od Prachatic	N48°59' 17,4'' E14°01' 51,1''	642	4x	13.4.2007	¶
266	7051	Cvrčkův mlýn	37. Šumavsko-novohradské podhůří; j – Blanský les	potok u Cvrčkova mlýnu	cca 1 km Z od Brlohu	N48°55' 36,8'' E14°12' 20,3''	579	4x	13.4.2007	¶
267	7052	Černý Dub	38. Budějovická pánev	potok v obci Černý dub	cca 7 km JZ od Českých Budějovic	N48°55' 41,6'' E14°24' 18,0''	436	4x	29.2.2008	¶
268	7053	Střížov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	potok mezi obcemi Borovnice a Střížov	cca 8 km J od Českých Budějovic	N48°54' 39,6'' E14°31' 32,0''	448	4x	29.2.2008	¶
269	7054	Petrovice	39. Třeboňská pánev	potok v obci Petrovice	cca 10 km JZ od Třeboně	N48°55' 53,6'' E14°41' 12,1''	459	4x	29.2.2008	¶
270	7055	Klikov	39. Třeboňská pánev	řeka Dračice u mostu západně od Klikova	cca 2 km SV od Suchdola nad Lužnicí	N48°54' 18,5'' E14°54' 22,2''	437	4x	13.4.2007	¶
271	7059	Radotice	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok severně u Radotic	cca 3 km J od Jemnice	N48°59' 42,2'' E15°35' 02,4''	426	4x	10.3.2008	¶
272	7060	Želetavy	68. Moravské podhůří Vysočiny	potok u mostu u Želetavy, u Svobodova mlýna	cca 14 km JV od Jemnice	N48°57' 40,5'' E15°40' 45,5''	365	4x	10.3.2008	¶
273	7062	Rudlice	68. Moravské podhůří Vysočiny	Hluboký potok u Šmídlava mlýna u obce Rudlice	cca 12 km S od Znojma	N48°56' 40,7'' E16°03' 02,3''	233	2x	30.3.2008	¶
274	7063	Domčice	16. Znojmsko-brněnská pahorkatina	potok v hájku za J krajem obce Horní Dunajovice Domčice	cca 14 km SV od Znojma	N48°56' 27,4'' E16°10' 17,6''	232	2x	30.3.2008	¶
275	7148a	České Žleby	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	potůček u silnice cca 0,5 od vleku mezi Českými Žleby a Soumarským mostem	cca 9 km JZ od Volar	N48°53' 14,9'' E13°47' 19,6''	896	4x	14.4.2007	⊗¶
276	7149	Záhvozdí	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	potok u obce Záhvozdí	cca 11 km J od Volar	N48°49' 51,9'' E13°57' 20,6''	741	4x	14.4.2007	¶
277	7151	Borová	37. Šumavsko-novohradské podhůří; j – Blanský les	potok o odbočky na obec Borová	cca 6 km J od Brlohu	N48°52' 29,4'' E14°13' 15,3''	612	4x	14.4.2007	¶
278	7152	Markvartice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	potok mezi obcemi Markvartice a Mirkovice	cca 7 km V od Českého Krumlova	N48°48' 52,3'' E14°25' 00,1''	637	4x	14.4.2007	¶



279	7153	Něchov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	Pašínovický potok mezi obcemi Něchov a Ločenice	cca 6 km od Trhových Svin	N48°49' 48,6'' E14°32' 12,4''	538	4x	14.4.2007	¶
280	7154	Brouskův mlýn	39. Třeboňská pánev	potok u Brouskůva mlýna	cca 6 km JV od Borovan	N48°52' 26,9'' E14°42' 29,8''	452	4x	14.4.2007	¶
281	7155	Lužnice	39. Třeboňská pánev	Lužnice nad jezem v obci Nová Ves	cca 6 km SZ od Českých Velenic	N48°48' 34,3'' E14°56' 02,0''	465	4x	15.4.2007	¶
282	7249	Nová Pec	88. Šumava; g – Hornovltavská kotlina	potok u Kocovi pily Z od Nová Pec	cca 11 km SZ od Horní Plané	N48°47' 01,5'' E13°56' 35,0''	751	4x	15.4.2007	¶
283	7250	Hůrka	37. Šumavsko-novohradské podhůří; i – Chvalšinské Předšumaví	u rybníku v obci Hůrka	cca 4 km JV od Horní Plané	N48°45' 01,1'' E14°04' 23,1''	735	4x	15.4.2007	¶
284	7251	Bohdalovice	37. Šumavsko-novohradské podhůří; l – Českokrumlovské Předšumaví	potok u silnice č. 162, u odbočky na Bohdalovice	cca 7 km J od Českého Krumlova	N48°45' 21,3'' E14°16' 46,6''	675	4x	15.4.2007	*¶
285	7252	Dolní Pláně	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	hájek V od obce Dolní Pláně	cca 10 km V od Českého Krumlova	N48°46' 49,5'' E14°25' 45,0''	644	4x	15.4.2007	¶
286	7253	Třebíčko	89. Novohradské hory	u Černé mezi obcemi Třebíčko a Benešov nad Černou	cca 10 km V od Kaplice	N48°43' 18,0'' E14°37' 43,8''	673	4x	15.4.2007	¶
287	7254	Terčino údolí	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	potok u brány parku Terčino údolí za obcí Údolí	cca 13 km JV od Trhových Svin	N48°47' 04,1'' E14°46' 08,8''	477	4x	15.4.2007	¶
288	7255	Vyšné	37. Šumavsko-novohradské podhůří; p – Novohradské podhůří	potok mezi obcemi Vyšné a České Velenice	cca 5 km Z od Českých Velenic	N48°47' 16,0'' E14°52' 53,7''	500	4x	15.4.2007	¶
289	7350	Milná	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	potok mezi obcemi Milná a Frymburk	cca 14 km JV od Horní Plané	N48°40' 51,3'' E14°09' 39,1''	732	4x	16.4.2007	¶
290	7351	Lipno	37. Šumavsko-novohradské podhůří; m – Vyšebrodsko	podél slalomky u počátku Vltavy pod Lipnem	cca 8 km Z od Vyššího Brodu	N48°37' 57,1'' E14°14' 30,8''	707	4x	16.4.2007	¶
291	7352	Rychnov	37. Šumavsko-novohradské podhůří; n – Kaplické mezihoří	u Malše na okraji obce Rychnov nad Malší	cca 10 km J od Kaplice	N48°40' 02,6'' E14°28' 49,3''	604	4x	16.4.2007	¶

292	7353	Malonty	89. Novohradské hory	potok u silnice č. 158 mezi obcemi Pohorská ves a Malonty	cca 14 km JV od Kaplice	N48°40' 02,9'' E14°37' 45,0''	736	4x	16.4.2007	¶
293	7568	Marhecký rybník	1. Záhorská nížina	Malacky, Marhecký rybník		N48°24' 34,6'' E17°01' 20,6''	172	2x	27.10.2007	⊗
294	7669	Pezinská Baba	10. Malé Karpaty	Pezinok, Pezinská Baba		N48°20' 29,8'' E17°13' 19,2''	297	2x	27.10.2007	
295	7868	Železná Studnička	10. Malé Karpaty	Bratislava, Železná Studnička		N48°11' 40,5'' E17°05' 42,3''	267	2x	5.11.2007	⊗
296	6945	Zweislerwaldhaus	-	potůčky v lese u parkoviště, odbočka ze silnice E53 na Zweislerwaldhaus	cca 2 km JV od Regenhütte	N49°04' 21,4'' E13°13' 46,0''	610	4x	1.5.2008	¶
297	7046	Filzwald	-	parkoviště Filzwald 3 km od Spiegelau, cca 5 min po cestě dolů, potůčky v lese	cca 3,5 km V od Spiegelau	N48°55' 01,4'' E13°24' 17,7''	759	4x	1.5.2008	⊗¶
298	7147	Mauth	-	u rybníku v obci Mauth		N48°53' 13,2'' E13°34' 40,2''	768	4x	1.5.2008	⊗¶
299	7148b	Vorderfirmiansreut	-	JV okraj obce Vorderfirmiansreut, potůčky v lese		N48°52' 26,3'' E13°40' 01,9''	947	4x	1.5.2008	¶
300	7246	Masering	-	potok u odbočky ze silnice č. 85 na Masering (u Titlingu)		N48°43' 21,3'' E13°22' 05,3''	657	4x	21.4.2007	¶
301	7448A	Mistlberg	-	potok u mostu mezi obcemi Mistlberg a Eidenberg		N48°34' 35,7'' E13°49' 18,2''	634	4x	1.5.2008	¶
302	7448B	Obekappel	-	potok J od Obekappel		N48°32' 54,4'' E13°45' 59,9''	517	4x	1.5.2008	⊗¶

Tabulka změřených DNA ploidních úrovní.

Pořadí	Číslo lokality	Číslo rostlin	CV standard	CV <i>Cardamine</i>	Poměr	DNA ploidní úroveň
1	5052	1-5	3,32	4,28	5,082	2x
		6-10	3,12	4,16	5,079	2x
2	5351	2,3,8,9,10	1,52	3,63	5,456	2x
		1,4,5,6,7	2,18	2,96	5,735	2x
3	5449	1-3	3,27	3,61	5,519	2x
		4-6	3,68	5,00	5,452	2x
		7-10	3,23	4,55	5,596	2x
4	5450	1-3	3,69	4,54	5,510	2x
		4-6	3,90	4,28	5,617	2x
		7-10	2,84	3,75	5,542	2x
5	5451	1,2,4,8,9	1,85	3,96	5,513	2x
		3,5,10	1,60	3,14	5,415	2x
		6,7	1,69	2,74	5,368	2x
6	5452	1,2,3,5	2,07	4,06	5,637	2x
		6,7,9,10	1,85	3,03	5,568	2x
		4	2,86	3,73	2,649	4x
		8	2,45	4,12	5,797	2x
7	5453	9,1	2,06	3,58	5,378	2x
		1,2,7,8	1,45	2,84	5,432	2x
		3,4,5,6	1,43	3,28	5,442	2x
8	5552	2,3,4	1,45	3,17	5,436	2x
		6,7,8,10	1,69	2,87	5,413	2x
		1,5,9	2,02	3,43	5,386	2x
9	5553	1-5	1,42	2,57	5,441	2x
		6-10	1,85	2,69	5,416	2x
10	5555	1,3,4,5	1,63	2,92	5,531	2x
		8,9,10	1,57	2,77	5,549	2x
		2,6,7	1,56	3,28	5,525	2x
11	5557	2,7,8,10	1,84	3,39	5,458	2x
		1,3,4,5,6,9	1,55	3,63	5,389	2x
12	5641	1-5	2,12	3,65	5,361	2x
		6-10	2,01	3,42	5,355	2x
13	5642	1,2	1,89	2,13	2,443	4x
		6,9,10	1,57	1,92	2,447	4x
		2,3,4,7,8	2,09	3,08	2,472	4x
14	5643	1-5	1,51	1,81	2,409	4x
		6-10	1,44	1,77	2,436	4x
15	5644	1-5	2,15	2,61	2,543	4x
		6-10	1,96	2,30	2,531	4x
16	5645	6-10	2,39	3,30	5,389	2x
		1-4	2,58	3,49	5,485	2x
17	5649	1,2,9,10	1,89	3,96	2,512	4x
		3-8	1,57	2,22	2,513	4x
18	5656	1-5	1,57	3,09	5,471	2x
		6-10	1,53	2,76	5,481	2x
19	5740	1	2,70	3,50	5,485	2x
		2	2,00	2,68	2,519	4x
		3	2,72	2,37	2,567	4x
		4	1,60	2,15	2,538	4x
		5	3,39	3,97	2,561	4x
		6	1,39	3,64	5,650	2x
		7	1,71	2,61	5,488	2x
		8	2,61	4,12	5,490	2x
		9	2,00	3,07	5,541	2x
		10	2,33	2,58	2,534	4x
20	5741	1-5	1,68	2,54	2,511	4x

		6-10	1,74	2,16	2,526	4x
21	5742	2-5	1,74	3,14	5,458	2x
		1,7	1,63	2,22	4,902	2x
		6,8,9,10	2,27	3,70	5,485	2x
22	5743	1	2,40	2,21	2,572	4x
		2	2,19	2,80	2,593	4x
		3	2,05	2,99	2,586	4x
		4	1,93	2,03	2,586	4x
		5	1,73	2,89	5,307	2x
		6	2,51	3,80	5,520	2x
		7	2,45	2,46	2,572	4x
		8	1,99	2,81	2,558	4x
		9	2,46	2,67	2,596	4x
		10	1,46	2,66	5,396	2x
23	5745	1-5	1,60	2,46	5,385	2x
		6-10	1,92	2,61	5,383	2x
24	5747	3,4,5,6	1,43	2,61	5,365	2x
		1,2	4,32	4,71	5,593	2x
		7,8,9,10	2,17	3,24	5,359	2x
25	5748	2,3,4,5,6	1,60	2,34	5,360	2x
		7,8,9,10	1,82	2,57	5,392	2x
		1	2,14	2,77	5,361	2x
26	5749	1-5	2,17	3,56	5,407	2x
		6-10	2,09	3,36	5,437	2x
27	5752	2,3,4,6	2,41	2,25	2,585	4x
		7,8,9,10	1,61	2,55	2,560	4x
		1,5	2,01	3,05	2,542	4x
28	5841	1,2,3,6,8	2,18	2,93	2,521	4x
		4,5,7,9,10	1,19	1,94	2,433	4x
29	5842A	1-3	3,14	3,51	2,562	4x
		4-6	3,43	3,07	2,581	4x
		7-10	3,97	4,00	2,557	4x
30	5842B	1,6,8	1,64	2,34	2,534	4x
		2,3,4	1,76	2,01	2,453	4x
		5,7,9,10	1,56	2,06	2,437	4x
31	5843	1-3	2,34	4,18	5,408	2x
		4-6	2,78	3,71	5,362	2x
		7-10	2,72	3,87	5,335	2x
32	5844	1,3,5,7,8	2,74	3,39	5,307	2x
		2,6,9	3,71	4,20	5,278	2x
		4,5,10	1,76	3,05	5,141	2x
33	5845	1,6	2,86	3,97	5,369	2x
		2,4,7,10	2,55	3,84	5,280	2x
		3,5,8,9	2,65	3,47	5,388	2x
34	5846	1-5	3,46	3,99	5,351	2x
		6-10	3,83	4,72	5,316	2x
35	5847	1-3	5,00	4,43	5,494	2x
		4-6	3,99	4,61	5,531	2x
		7-10	4,18	4,65	5,551	2x
36	5848	1-3	4,10	4,74	5,462	2x
		4-6	3,81	4,23	5,468	2x
		7-10	4,35	4,13	5,442	2x
37	5849	1-3	3,56	4,31	5,423	2x
		4,5	3,89	4,08	5,446	2x
		6-10	2,88	3,33	5,376	2x
38	5850	1-3	3,65	3,94	5,560	2x
		4-6	3,87	4,08	5,491	2x
		7-10	3,97	4,01	5,488	2x
39	5851	1-3	3,31	3,92	5,374	2x
		4-6	3,15	3,60	5,427	2x
		7-10	3,37	4,27	5,467	2x

40	5858	1-5	1,96	3,30	5,369	2x
		6-10	1,66	2,68	5,333	2x
41	5940	1-5	2,69	3,27	2,534	4x
		6-10	3,63	3,07	2,600	4x
42	5941	1-3	3,27	3,36	2,501	4x
		4-6	1,05	2,94	2,498	4x
		7-10	1,88	2,70	2,510	4x
43	5942	1	3,69	4,49	5,545	2x
		2	2,58	2,94	2,550	4x
		3	2,19	3,90	5,419	2x
		4-6	2,44	3,00	5,207	2x
		7-10	2,55	3,06	5,195	2x
44	5943	3,5	1,78	2,34	2,504	4x
		7-10	1,40	1,79	2,444	4x
		1,2,4,6	1,52	2,08	2,454	4x
45	5944	3,4	2,80	3,88	5,460	2x
		1,6,7	3,35	4,02	5,429	2x
		2,5,8	2,97	3,63	5,364	2x
		9-10	2,97	3,57	5,414	2x
46	5945	1,2,4,6,8,9	2,79	3,28	5,479	2x
		3,5	3,22	3,79	5,404	2x
		7, 10	3,09	4,01	5,445	2x
47	5946	1-3	4,31	3,64	5,488	2x
		4-6	3,35	3,34	5,425	2x
		7-10	3,97	4,40	5,424	2x
48	5947	1-3	3,34	3,19	5,394	2x
		4-6	3,84	3,25	5,361	2x
		7-10	3,44	3,72	5,480	2x
49	5948	1-5	3,15	3,86	5,365	2x
		6-10	3,05	3,42	5,319	2x
50	5949	1-3	4,07	3,81	5,469	2x
		4-6	4,78	4,15	5,602	2x
		7-10	3,89	3,53	5,501	2x
51	5950	1-3	3,44	4,45	5,434	2x
		4-6	3,55	4,83	5,525	2x
		7-10	3,45	3,74	5,439	2x
52	5954	1-3	3,42	4,70	5,196	2x
		4-6	4,03	4,64	5,399	2x
		7-10	3,09	3,35	5,192	2x
53	5955	1-3	3,57	3,39	5,295	2x
		4-6	4,91	4,61	5,247	2x
		7-10	3,38	3,34	5,351	2x
54	5958	2,3,4,6,8,9	1,70	3,18	5,567	2x
		1,5,7,10	1,82	3,31	5,438	2x
55	5959	1,2,3,8	1,88	3,81	5,366	2x
		4,5,6,7,9,10	1,77	4,25	5,643	2x
56	5962	2,6,7,10	1,70	3,73	5,538	2x
		1,3,4,5,8,9	1,79	3,21	5,434	2x
57	5963	2,3,4	1,71	3,37	5,568	2x
		6,8,9,10	1,95	3,75	5,536	2x
		1,5,7	1,79	2,89	5,434	2x
58	6041	1-3	3,84	3,64	2,600	4x
		4-6	3,63	3,93	2,559	4x
		7-10	3,07	3,08	2,577	4x
59	6042	1	4,44	2,46	2,541	4x
		2	3,50	4,03	2,602	4x
		3	3,62	3,76	5,424	2x
		4	4,12	4,21	2,593	4x
		5	4,07	3,91	5,461	2x
		6	3,28	4,58	2,649	4x
		7-10	3,31	3,42	2,575	4x

60	6043	1-3	2,29	2,63	2,542	4x
		4-6	2,42	2,80	2,544	4x
		7-10	2,16	2,54	2,527	4x
61	6044	1,2	2,77	4,57	5,249	2x
		3,5	3,28	4,73	5,145	2x
		6,7,8	3,51	4,36	5,237	2x
		4,9,10	2,93	3,87	5,247	2x
62	6045	1	3,85	4,60	5,299	2x
		2	2,98	3,31	3,353	3x
		3	3,77	4,39	3,407	3x
		4	2,09	2,85	3,377	3x
		5	3,93	4,81	5,470	2x
		6	2,36	3,13	2,655	4x
		7	2,46	4,15	3,336	3x
		8	1,82	3,51	5,226	2x
		9	2,84	4,31	3,430	3x
		10	2,68	3,91	2,697	4x
63	6046	1-3	3,67	3,71	5,511	2x
		4-6	4,59	3,54	5,528	2x
		7-10	4,32	4,04	5,467	2x
64	6047	1-3	3,34	3,88	5,415	2x
		4-6	3,60	3,93	5,323	2x
		7-10	3,18	4,69	5,362	2x
65	6048	1-3	4,14	3,75	2,646	4x
		4-6	4,11	3,85	2,673	4x
		7-10	3,84	3,73	2,665	4x
66	6049	1-5	2,97	3,78	5,383	2x
		6-10	3,19	3,88	5,351	2x
67	6050	1-3	3,38	4,02	5,470	2x
		4-6	3,09	3,37	5,504	2x
		7-10	3,16	3,70	5,548	2x
68	6051	1-3	3,46	3,51	5,526	2x
		4-6	3,21	3,59	5,495	2x
		7-10	3,43	4,75	5,613	2x
69	6052	1-3	3,75	4,58	5,420	2x
		4-6	3,98	4,20	5,376	2x
		7-10	3,20	4,80	5,358	2x
70	6053	1-5	4,53	4,30	5,335	2x
		6-10	4,18	4,14	5,400	2x
71	6054	1-3	4,87	4,99	5,186	2x
		4-6	3,86	4,34	5,318	2x
		7-10	4,75	4,06	4,999	2x
		8,9	2,51	3,50	5,361	2x
72	6055	1-3	3,44	3,81	5,260	2x
		4-6	3,83	3,84	5,183	2x
		7,8	3,40	4,44	5,427	2x
		9,1	4,20	4,23	5,440	2x
73	6056	1-3	4,07	4,52	5,587	2x
		4-6	4,41	4,27	5,319	2x
		7-10	4,71	4,53	5,342	2x
74	6057	2,5,9	2,66	3,25	5,428	2x
		3,5,6,7,9	1,81	3,54	5,480	2x
		1,4,8,10	3,05	4,70	5,331	2x
75	6059	6-10	2,11	3,04	5,377	2x
		1-5	1,56	2,83	5,820	2x
76	6060	1,2,7,8	1,79	3,18	5,459	2x
		3,4,5,6,9,10	1,57	3,75	5,188	2x
77	6063	1,2,3,4,7	2,21	3,77	5,542	2x
		5,6,8,9,10	1,76	3,10	5,447	2x
78	6141	1-5	3,01	2,43	2,550	4x
		6-10	3,81	3,56	2,562	4x

79	6142	1-5	2,96	3,58	2,576	4x
		6-10	3,90	3,72	2,575	4x
80	6143	1-5	3,05	3,10	2,534	4x
		6-10	2,26	3,05	2,577	4x
81	6144	2,3,4,6,10	2,54	3,36	5,269	2x
		1,5	3,90	4,53	5,311	2x
		7,8,9	3,44	4,44	5,168	2x
82	6145	1,2,6,10	2,88	3,03	5,218	2x
		3,4,5	2,50	4,23	5,223	2x
		7,8,9	3,55	3,24	5,465	2x
83	6146	1-5	3,85	3,33	2,641	4x
		6-10	3,16	3,69	2,630	4x
84	6147	1	4,62	4,44	5,679	2x
		2	4,35	4,85	5,735	2x
		3	3,79	3,16	2,673	4x
		4-6	2,80	3,33	5,530	2x
		7-10	3,22	3,29	5,575	2x
85	6148	1-3	3,44	3,29	2,540	4x
		4-6	2,97	3,04	2,563	4x
		7-10	3,18	2,55	2,590	4x
86	6149	1-5	3,61	3,16	5,309	2x
		6-10	3,45	3,77	5,379	2x
87	6150	1-3	3,96	4,80	5,486	2x
		4-6	3,98	3,89	5,440	2x
		7-10	3,96	4,48	5,519	2x
88	6151	1-3	3,57	4,01	5,465	2x
		4-6	4,14	4,11	5,483	2x
		7-10	3,08	3,88	5,406	2x
89	6152	1-5	3,65	3,68	5,544	2x
		6-10	3,90	4,19	5,524	2x
90	6153	1-5	4,10	4,07	5,073	2x
		6-10	4,97	4,59	5,360	2x
91	6154	1-5	4,74	4,22	5,141	2x
		6-10	4,08	4,90	5,470	2x
92	6155	1-5	4,43	4,88	5,089	2x
		6-10	4,30	4,66	5,093	2x
93	6156	1-5	3,67	5,00	2,609	4x
		6-10	4,36	4,37	2,606	4x
94	6157	1-5	1,86	2,24	2,565	4x
		6,7,8	2,08	3,06	2,611	4x
		9,1	2,31	2,34	2,584	4x
95	6158	3,4,6,7	1,54	3,52	5,639	2x
		1,2,5	2,38	2,34	2,563	4x
		8,9,10	1,83	2,34	2,532	4x
96	6159	1-5	1,57	2,28	2,521	4x
		6-10	2,11	2,41	2,512	4x
97	6160	1-5	1,72	2,56	5,409	2x
		6-10	1,66	2,54	5,399	2x
98	6161	2,3,9	1,78	3,49	5,518	2x
		1,7,10	1,79	3,11	5,475	2x
		4,5,6,7,8	1,59	2,74	5,471	2x
99	6162	1-4	1,67	4,25	5,445	2x
		5,6,9	2,33	3,04	5,530	2x
		7,8,10	1,88	3,09	5,564	2x
100	6163	1-5	1,42	3,13	5,447	2x
		6-10	1,01	3,39	5,337	2x
101	6241	1-5	3,02	2,78	2,599	4x
		6-10	3,06	3,04	2,578	4x
102	6242	1-5	2,25	3,50	2,524	4x
		6-10	2,70	2,89	2,529	4x
103	6243	1-5	3,19	3,16	2,589	4x

		6-10	2,83	3,64	2,546	4x
104	6244	1-5	3,46	4,53	5,448	2x
		6-10	3,33	3,71	5,429	2x
105	6245	1-5	3,90	3,23	2,571	4x
		6-10	3,62	3,89	2,568	4x
106	6247	1-5	3,14	2,93	2,593	4x
		6-10	3,56	3,23	2,643	4x
107	6248	1-5	3,57	3,65	2,584	4x
		6-10	3,81	3,17	2,636	4x
108	6249	1-5	3,41	2,74	2,492	4x
		6-10	3,14	3,78	2,469	4x
109	6250	1-5	3,90	4,39	5,317	2x
		6-10	3,64	4,46	5,297	2x
110	6251	1-5	2,99	3,61	5,537	2x
		6-10	2,98	3,50	5,519	2x
111	6252	1-5	3,45	4,61	5,560	2x
		6-10	3,08	3,97	5,487	2x
112	6253	1	2,74	2,68	2,561	4x
		3,5	3,78	4,03	5,621	2x
		4,6	4,90	4,09	5,334	2x
		7-10	2,75	4,46	5,288	2x
113	6254	1-3	4,71	3,39	3,572	3x
		4,5,8,9	4,98	3,54	3,557	3x
		6,7,10	3,53	4,82	3,520	3x
		4	4,43	4,50	5,537	2x
		1	2,01	3,17	5,494	2x
		2	1,77	2,25	3,522	3x
		3	3,44	3,33	3,498	3x
		4	1,77	3,33	5,539	2x
		5	1,59	3,26	3,525	3x
		6	2,06	2,76	3,526	3x
		7	1,72	3,79	5,498	2x
		8	1,58	2,35	3,486	3x
		9	1,82	2,22	3,487	3x
		10	1,66	2,84	5,466	2x
		11	1,71	2,27	3,513	3x
		12	1,52	2,26	3,487	3x
114	6255	1-5	3,91	3,33	2,572	4x
		6-10	3,36	3,27	2,566	4x
115	6256	1-5	4,41	3,46	2,524	4x
		6-10	3,19	3,76	2,531	4x
116	6257	1-5	2,63	2,20	2,041	4x
		6-10	2,05	1,96	2,060	4x
117	6258	1,5,7,10	1,79	2,24	2,554	4x
		2,3,4,6,8,9	1,91	2,17	2,050	4x
118	6259	3,6	1,77	2,24	2,529	4x
		1,2,4,5	1,66	2,88	2,525	4x
		7,8,9,10	1,62	1,93	2,521	4x
119	6260	6-10	1,56	3,27	5,462	2x
		2,3	1,90	2,56	2,562	4x
		4	2,06	2,39	2,542	4x
		5	1,55	2,50	5,469	2x
		1	1,50	2,03	2,539	4x
120	6261	1-5	1,77	2,21	2,543	4x
		6-10	3,15	3,43	2,489	4x
121	6262	1,2,3	2,05	3,64	5,481	2x
		4,5	2,02	3,81	5,503	2x
		6-10	1,36	2,64	5,510	2x
122	6263	1,4,6	2,27	3,99	3,465	3x
		2,3,9	2,31	2,36	3,539	3x
		5,7,8,10	2,55	1,99	3,523	3x



123	6341	1-5	3,13	3,63	2,541	4x
		6-10	3,33	3,48	2,519	4x
124	6342	1-5	3,06	3,55	2,576	4x
		6-10	2,66	3,09	2,546	4x
125	6343	1-5	2,65	3,29	5,347	2x
		6-10	2,32	3,13	5,309	2x
126	6344	1-4	2,81	3,87	5,169	2x
		5-10	3,42	3,05	5,191	2x
127	6345	1-5	4,72	3,83	2,549	4x
		6-10	4,53	4,39	2,556	4x
128	6346	1-5	2,73	2,89	2,555	4x
		6-10	2,75	3,04	2,563	4x
129	6347	1-5	4,82	4,03	2,355	4x
		6-10	4,42	4,16	2,406	4x
130	6348	1-5	3,99	4,25	2,591	4x
		6-10	4,28	6,00	2,522	4x
131	6349	1-5	2,61	3,23	2,528	4x
		6-10	2,47	2,90	2,544	4x
132	6350	1-5	3,48	3,47	5,319	2x
		6-10	3,26	3,42	5,310	2x
133	6351	1-5	4,10	4,47	5,147	2x
		6-10	4,86	4,48	5,248	2x
134	6352	1-3	4,38	4,98	5,444	2x
		4-6	4,51	4,99	5,438	2x
		7-10	4,02	4,82	5,285	2x
135	6353	3	4,09	4,93	5,733	2x
		1,2,9	3,49	3,34	2,562	4x
		6-10	3,01	3,43	2,556	4x
		7	4,61	4,92	5,775	2x
		4	4,41	4,50	2,676	4x
		5	4,44	4,05	2,590	4x
136	6354	1-3	4,18	4,71	2,547	4x
		4-6	4,21	4,57	2,426	4x
		7-10	4,42	4,95	2,536	4x
137	6355	1-10	1,78	2,67	2,580	4x
138	6356	1-5	3,75	3,99	2,555	4x
		6-10	3,32	3,84	2,559	4x
139	6357	1-5	2,04	2,16	2,560	4x
		6-10	2,40	2,39	2,575	4x
140	6358	1-3	3,22	2,95	2,622	4x
		4,6,8	2,05	2,18	2,600	4x
		5,7,9,10	1,54	2,22	2,541	4x
141	6359	1-6	1,47	2,80	2,562	4x
		7-10	1,45	2,20	2,555	4x
142	6360	1-5	2,44	2,60	2,627	4x
		6-10	2,15	2,60	2,603	4x
143	6361	1,2	2,22	3,26	3,437	3x
		3	1,75	2,93	5,437	2x
		4	2,23	3,48	3,434	3x
		5,6	2,09	2,96	3,468	3x
		7	2,03	2,84	5,497	2x
		8	2,56	3,60	3,384	3x
		9	1,64	2,86	5,491	2x
		10	1,97	2,76	3,492	3x
144	6362	1-6	1,92	2,93	2,523	4x
		7-10	2,98	4,96	2,667	4x
145	6363	1-5	1,67	2,25	2,520	4x
		6-10	2,01	2,99	2,588	4x
146	6442	1-5	1,93	3,13	2,512	4x
		6-10	2,44	3,23	2,531	4x
147	6443	1	3,26	4,62	5,376	2x

		2	3,89	4,85	2,608	4x
		3	3,69	4,91	5,985	2x
		4	4,06	4,14	2,685	4x
		5	3,32	4,83	5,518	2x
		6-10	4,30	4,64	2,360	4x
148	6444	1-4	3,11	2,41	2,520	4x
		5-10	2,31	2,20	2,518	4x
		8	2,84	4,34	5,176	2x
		9,1	2,84	2,76	2,523	4x
149	6445	1-3	2,68	3,30	2,567	4x
		4-6, 10	3,68	3,61	2,604	4x
		7-9	3,01	3,05	2,588	4x
150	6446	1-5	3,21	3,70	5,435	2x
		6-10	2,98	3,06	5,407	2x
151	6447	1-5	3,08	3,96	2,579	4x
		6-10	4,78	4,15	2,356	4x
152	6448	1-5	3,93	3,32	2,545	4x
		6-10	3,01	3,49	2,559	4x
153	6449	1-5	2,59	3,19	2,563	4x
		6-10	2,91	3,13	2,555	4x
154	6450	1-5	4,36	4,35	5,276	2x
		6-10	4,83	4,76	5,336	2x
155	6451	1-5	4,26	4,36	5,028	2x
		6-10	4,25	4,44	5,299	2x
156	6452	1-5	4,42	4,84	2,365	4x
		6-10	4,36	4,40	2,576	4x
157	6453	1-5	4,45	4,37	2,570	4x
		6-10	3,46	4,69	2,600	4x
158	6454	1-5	3,60	3,16	2,549	4x
		6-10	3,00	3,29	2,549	4x
159	6455	2-3	2,28	3,24	2,586	4x
		4-7	1,70	2,84	2,554	4x
		1,8,9,10	1,96	2,45	2,558	4x
160	6456	1,5,7,8	1,93	2,45	2,630	4x
		3,4,6	2,81	3,96	2,601	4x
		2,9,10	1,77	2,17	2,558	4x
161	6457	1-5	1,89	3,63	2,573	4x
		6-10	1,33	2,40	2,543	4x
162	6458	1-6	1,66	2,90	2,565	4x
		7-10	1,64	2,12	2,562	4x
163	6459	1,3,5	2,03	2,29	2,570	4x
		2,4,9	1,57	1,74	2,571	4x
		6,7,8,10	1,93	2,28	2,563	4x
164	6460	3,8,9,10	1,57	2,33	2,556	4x
		2,4,7	2,67	2,81	2,634	4x
		1,5,6	1,96	2,47	2,563	4x
165	6461	1,2,3	1,47	2,63	2,554	4x
		6,7,8	2,25	3,23	2,565	4x
		4,5,9,10	2,57	2,55	2,568	4x
166	6462	1-5	2,04	2,79	2,562	4x
		6-10	1,96	2,33	2,543	4x
167	6463	1,2,3,5,10	1,77	2,21	2,610	4x
		4,6,7,8,9	1,55	2,32	2,601	4x
168	6542	1-3,5-7	3,45	3,90	2,507	4x
		2,4,8,9	3,02	3,01	2,492	4x
169	6543	1-3, 9,10	3,75	3,57	2,493	4x
		4-7	4,28	3,78	2,511	4x
		8	4,41	4,92	5,338	2x
170	6544	1-5	2,83	2,41	2,589	4x
		6-10	1,44	2,47	2,550	4x
171	6545	1-5	3,35	3,44	2,471	4x

		6-10	3,36	3,29	2,546	4x
172	6546	1-4	3,16	3,74	2,501	4x
		5,1	4,37	3,85	2,397	4x
		7-9	2,97	3,96	2,494	4x
173	6547	1-5	4,09	4,28	2,379	4x
		6-10	3,50	3,61	2,586	4x
174	6548	1-10	4,31	3,46	2,562	4x
175	6549	1-5	2,47	2,39	2,588	4x
		6-10	2,53	2,31	2,574	4x
176	6550	1-5	3,83	4,56	2,611	4x
		6-10	3,82	4,63	2,612	4x
177	6551	1-5	4,79	4,76	5,334	2x
		6-10	5,00	4,23	5,278	2x
178	6552	1-5	4,06	4,30	2,654	4x
		6-10	4,02	4,94	2,541	4x
179	6553	1-5	3,28	4,53	5,540	2x
		6-10	4,72	4,14	5,413	2x
180	6554	1-5	6,00	4,19	2,619	4x
		6-10	3,11	3,70	2,612	4x
181	6555	8-10	1,78	2,41	2,598	4x
		1,3,6	1,82	2,76	2,646	4x
		5,7	1,74	3,14	2,589	4x
		2,4	2,72	3,37	2,643	4x
182	6556	2,4,9	1,74	2,62	2,577	4x
		5,8	1,72	2,00	2,571	4x
		1,3,6	2,71	2,74	2,566	4x
		7,1	2,31	3,20	2,578	4x
183	6557	1,2,4	2,51	2,83	2,580	4x
		6,8,3	3,95	2,81	2,567	4x
		5,7,9,10	1,32	1,83	2,562	4x
184	6558	1-5	1,77	2,42	2,563	4x
		6-10	2,80	2,32	2,584	4x
185	6559	2-4	2,77	2,14	2,550	4x
		5,6,9,10	2,62	2,92	2,553	4x
		1,7,8	3,03	3,56	2,577	4x
186	6560	4,8,9,10	1,91	3,13	2,614	4x
		1,2,3,5,6,7	1,71	2,41	2,528	4x
187	6561	1,2,3,5	2,21	2,39	2,543	4x
		4,9	2,95	2,78	2,549	4x
		6,7,8,10	1,64	2,48	2,564	4x
188	6562	4,5,6,9,10	2,11	3,79	5,554	2x
		1,2,3,7,8	1,74	2,74	5,528	2x
189	6563	2,3,4,5,10	1,77	2,24	2,562	4x
		1,6,7,8,9	2,63	3,18	2,556	4x
190	6564	2,3,7,8,10	2,00	3,54	5,441	2x
		1,4,5,6,9	1,69	2,71	5,444	2x
191	6644	1,3,5,7-10	2,67	3,08	2,518	4x
		2,4,6	3,94	3,48	2,557	4x
192	6645	1-10	3,12	3,17	2,566	4x
193	6646	1-10	2,59	3,04	2,505	4x
194	6647	1-10	3,56	3,25	2,603	4x
195	6648	1-10	2,05	2,56	2,559	4x
196	6649	1-10	3,13	2,85	2,547	4x
197	6650	1-3	2,45	3,56	5,572	2x
		4-6	3,47	4,15	5,665	2x
		7-10	2,88	3,35	5,560	2x
198	6651	1-3	1,95	3,03	5,553	2x
		4-6	1,90	3,36	5,534	2x
		7-10	2,98	4,03	5,605	2x
199	6652	1-3	2,74	3,64	5,523	2x
		4-6	2,78	3,05	5,500	2x

		7-10	3,32	3,72	5,404	2x
200	6654	1-5	4,30	3,56	2,037	4x
		6-10	4,27	4,45	2,317	4x
201	6655	5-7	2,03	2,40	2,583	4x
		1-2	2,07	2,67	2,550	4x
		9-10	1,90	2,10	2,593	4x
		3,4,8	2,14	2,62	2,620	4x
202	6656	4,8,5,6	1,59	2,47	2,626	4x
		1,2,3,7	2,45	3,01	2,616	4x
		9,1	1,37	3,54	2,618	4x
203	6657	1-6,9,10	2,42	2,29	2,534	4x
		7,8	2,54	2,51	2,535	4x
204	6658	2,3,10	2,36	3,54	2,619	4x
		1,5,7,8,9	1,19	2,06	2,577	4x
		4,6,8	1,47	2,44	2,577	4x
205	6659	1-4	2,00	2,77	2,564	4x
		5,6,7,10	2,12	2,53	2,562	4x
		8,9	2,87	4,30	2,589	4x
206	6660	2,3,7,10	2,19	2,74	2,570	4x
		1	2,53	3,04	2,536	4x
		4,5,6,8,9	1,79	2,47	2,548	4x
207	6661	1,7,8,9	1,65	2,23	2,537	4x
		2-6,10	1,75	2,54	2,553	4x
208	6662	1,2,9	1,59	2,57	2,525	4x
		3,4,5,6	1,76	2,99	2,518	4x
		7,8,10	1,35	1,97	2,547	4x
209	6663	5,7,8	1,38	2,87	5,449	2x
		2,6,9,10	1,82	3,55	5,456	2x
		3,4,1	3,20	3,76	5,442	2x
210	6664	4,7,8,9	1,87	2,01	2,573	4x
		1,2,3,10	1,49	2,13	2,573	4x
		5,6	2,19	2,00	2,551	4x
211	6744	1,5,9,10	3,89	3,87	2,496	4x
		2-4,6-8	2,75	3,24	2,546	4x
212	6745	1,2,6,10	3,07	3,24	2,551	4x
		3-5,7-9	3,44	3,14	2,518	4x
213	6746	1-5	4,72	3,47	2,577	4x
		6-10	3,83	3,95	2,587	4x
214	6747	1-10	2,72	3,33	2,470	4x
215	6748	2,6	3,58	3,27	2,658	4x
		1,3-5,7-10	3,09	3,62	2,555	4x
216	6749	3,9	4,00	3,96	2,601	4x
		1,2,4-8,10	3,25	3,51	2,552	4x
217	6750	1-10	3,07	3,14	2,570	4x
218	6751	1-5	4,86	4,49	5,034	2x
		6-10	4,89	4,87	5,103	2x
219	6752	1-5	4,52	4,85	5,164	2x
		6-10	4,90	4,11	5,303	2x
220	6754	1-10	3,21	3,56	2,605	4x
221	6755	1,2,7	2,38	2,89	2,617	4x
		3,5,8,9,10	1,65	2,08	2,546	4x
		4,6	1,94	2,40	2,556	4x
222	6756	1,2,4,8	2,48	2,88	2,537	4x
		3,9	2,97	2,49	2,582	4x
		5,6,8,9,10	1,30	1,85	2,568	4x
223	6757	1,2,8	1,82	2,36	2,589	4x
		3,4,5	1,98	2,70	2,575	4x
		6,7,9,10	1,72	2,26	2,573	4x
224	6758	3,5,6	2,11	2,44	2,564	4x
		1,2,4,10	2,06	2,51	2,596	4x
		7,8,9	24,51	4,98	2,637	4x

225	6759	2,4,5,6,8	2,51	2,48	2,517	4x
		1,3	3,82	3,03	2,548	4x
		7,9,10	1,75	2,16	2,503	4x
226	6760	1,2	2,59	3,32	2,612	4x
		3,4,5,10	1,93	2,00	2,582	4x
		6,7,8,9	1,94	2,97	2,549	4x
227	6761	6,7,8,9,10	1,58	2,84	5,388	2x
		1,2,3,4,5	1,67	2,88	5,250	2x
228	6762	3,5,6	1,89	3,83	5,437	2x
		2,3,5,6	1,44	2,53	5,444	2x
		1	1,97	3,65	5,435	2x
		4	1,92	2,37	2,607	4x
		7	3,70	3,43	2,617	4x
		8,9,10	1,40	2,86	5,436	2x
229	6763	1-5	1,54	2,98	5,466	2x
		6-10	1,40	2,79	5,413	2x
230	6764	1-5	1,55	2,83	5,530	2x
		6-10	1,79	2,72	5,469	2x
231	6845	1-10	3,68	3,40	2,535	4x
232	6845 B	1-3	3,02	3,65	2,521	4x
		4-6	3,72	3,43	2,541	4x
		7-10	3,26	3,16	2,564	4x
233	6846	1-10	2,84	3,79	2,535	4x
234	6847	1-10	2,84	3,14	2,491	4x
235	6848	1-10	3,79	3,32	2,578	4x
236	6849	1-10	3,33	3,38	2,550	4x
237	6850	1-10	3,17	3,34	2,518	4x
238	6851	7,2,9	1,77	2,95	5,635	2x
		1,3,4	2,20	3,09	5,635	2x
		5,6,8,10	2,65	3,73	5,766	2x
239	6852	4,7,8-10	2,09	3,64	5,450	2x
		1,2,3,5,6	1,52	2,98	5,513	2x
240	6855	1-5	2,41	2,70	2,488	4x
		6-10	3,53	4,09	2,579	4x
241	6857	5,6	2,04	2,95	2,543	4x
		1,7,8	1,78	2,51	2,547	4x
		2,3,4,9,10	1,87	2,87	2,535	4x
242	6858	1,6,7,3	2,82	3,25	2,553	4x
		2,4,5,8,9,10	1,46	2,11	2,549	4x
243	6859	1,3,4,5,7	3,00	3,04	2,558	4x
		2,6	2,00	2,40	2,515	4x
		8,9,10	1,95	2,50	2,533	4x
244	6860	3	1,93	3,19	5,667	2x
		4,8,9	3,43	4,82	0,000	2x
		1,2,5,6,7,10	1,42	2,72	5,492	2x
245	6861	1,2,3,4,5	1,91	3,28	5,346	2x
		6-10	1,57	2,99	5,326	2x
246	6862	2,4,5,7	1,16	2,82	5,487	2x
		1,3,6,8,9,10	1,53	3,02	5,533	2x
247	6863	1,2,5,8,9,10	1,25	2,68	5,478	2x
		3,4,6,7	1,59	2,95	5,363	2x
248	6947	1-10	2,43	3,21	2,459	4x
249	6948	1-5	2,81	3,16	2,563	4x
		6-10	1,86	2,51	2,506	4x
250	6949	2,4,5,9	2,86	3,28	2,573	4x
		1,3,6-8,10	2,09	2,53	2,523	4x
251	6950	1-10	3,56	3,63	2,534	4x
252	6951	1-10	3,18	3,77	2,557	4x
253	6952A	1-5	2,82	3,76	5,402	2x
		6-10	2,70	1,81	5,481	2x
254	6952B	1-5	2,53	2,48	2,540	4x

		6-10	1,90	2,21	2,539	4x
255	6953	1,3,9,10	1,99	2,98	2,526	4x
		4,5	2,04	2,35	2,559	4x
		2	1,96	2,57	2,522	4x
		6,7,8	1,67	2,32	2,524	4x
256	6955	2-4,10	3,02	3,56	2,462	4x
		1,5-9	3,02	2,93	2,534	4x
257	6956	7,8	2,51	2,70	2,590	4x
		1,2,9,10	2,30	2,85	2,583	4x
		3,4,5,6	1,58	2,25	2,541	4x
258	6957	5,9	2,72	2,23	2,549	4x
		3,4,10	2,72	2,98	2,549	4x
		1,2,6,7,8	1,56	1,99	2,499	4x
259	6958	1,2,5,9	1,84	2,72	2,543	4x
		3,4,6,7,8,10	2,06	2,54	2,552	4x
260	6959	1,3,4,5	2,20	3,25	2,543	4x
		6,7,9,10	2,45	2,80	2,517	4x
		2,8	1,95	2,30	2,496	4x
261	6960	2,6,7,10	1,80	2,70	2,564	4x
		1,3,4	2,11	3,36	2,589	4x
		5,8,9	3,01	3,08	2,594	4x
262	6962	1,2,7,8	1,76	3,73	5,452	2x
		3-6,9,10	1,56	2,75	5,386	2x
263	7048	1-10	2,92	3,03	2,573	4x
264	7049	1-4,8	2,68	2,81	2,546	4x
		5-7,9,10	2,27	2,23	2,489	4x
265	7050	1-10	3,56	3,26	2,571	4x
266	7051	1-10	3,24	3,85	2,503	4x
267	7052	2,4,5	2,84	2,84	2,568	4x
		3	2,28	2,73	2,528	4x
		1,6,8	4,82	2,50	2,543	4x
268	7053	1,2,3,4,7	1,52	2,25	2,549	4x
		5, 6,8-10	1,53	2,19	2,520	4x
269	7054	1,4,5	2,06	2,48	2,553	4x
		2,3,6-10	1,67	2,04	2,538	4x
270	7055	1,2,4-6,10	1,82	1,85	2,564	4x
		3,7-9	2,94	3,04	2,558	4x
271	7059	4,7,10	1,90	3,05	2,638	4x
		1-3,5,6,8,9	1,54	2,10	2,575	4x
272	7060	2-5	2,03	2,60	2,585	4x
		7-10	1,85	3,21	2,559	4x
		1,6	3,26	3,84	2,575	4x
273	7062	1,2,3,4,8,9,10	1,47	3,17	5,457	2x
		5,6,7	1,87	2,74	5,447	2x
274	7063	1-5	2,56	1,07	5,399	2x
		6,7,8,9,10	2,17	2,97	5,371	2x
275	7148	1-10	2,41	2,75	2,499	4x
276	7149	2,4,6	1,76	2,30	2,490	4x
		1,3,5,7-10	3,57	3,15	2,560	4x
277	7151	1,5,8	2,57	3,34	2,471	4x
		2-4,6,7,9,10	2,65	3,56	2,498	4x
278	7152	1-10	2,44	2,85	2,494	4x
279	7153	1-10	2,55	2,80	2,508	4x
280	7154	1-10	3,73	3,09	2,561	4x
281	7155	1-10	3,59	3,46	2,565	4x
282	7249	1-10	1,79	2,19	2,441	4x
283	7250	1-10	3,41	3,60	2,529	4x
284	7251	1-10	2,47	2,51	2,542	4x
285	7252	1,2,4	2,62	2,77	2,537	4x
		3,5,6-10	3,89	3,96	2,563	4x
286	7253	1,4,9,10	2,22	2,15	2,504	4x

		2,3,5-8	3,23	3,51	2,560	4x
287	7254	1,3-5,8,10	1,83	1,75	2,509	4x
		2,6,7,9	3,55	3,85	2,552	4x
288	7255	1-10	2,78	2,82	2,487	4x
289	7350	1-10	3,80	3,55	2,407	4x
290	7351	1-10	2,09	3,11	2,453	4x
291	7352	1,3,5,8,9	3,19	3,41	2,550	4x
		2,4,6,7,10	1,78	1,92	2,514	4x
292	7353	1,7,10	2,11	1,82	2,551	4x
		2-6,8,9	3,74	3,95	2,497	4x
293	6945	1-10	1,56	2,40	2,557	4x
294	7046	1-10	2,20	2,74	2,583	4x
295	7147	1-10	1,54	2,22	2,541	4x
296	7148	1-10	2,23	2,59	2,532	4x
297	7246	1-10	2,07	2,54	2,528	4x
298	7448B	1-10	1,80	2,17	2,521	4x
299	7448A	1-10	2,25	2,51	2,625	4x

Tabulka absolutních velikostí genomu v pikogramech. 2C = obsah DNA somatických buněk, 1Cx = obsah DNA haploidního genomu, S.D. = směrodatná odchylka.

Číslo populace	Analyzovaná rostlina	CV standard	CV <i>Cardamine</i>	Poměr	DNA ploidní stupeň	1/poměr	Index (pro vzorek)	2C	1Cx	S.D. (z 1Cx) pro ploidii	Průměr z 2C (pro vzorek)	Rozdíl měření (pro vzorek)
5553	6a	1,94	2,94	4,913	2x	0,204		0,509	0,254			
	6b	1,74	2,91	4,905	2x	0,204		0,510	0,255			
	6c	2,12	2,97	4,925	2x	0,203	0,203	0,508	0,254	0,013	0,509	0,236
6161	3a	2,49	2,91	5,557	2x	0,180		0,450	0,225			
	3b	1,55	2,79	5,520	2x	0,181		0,453	0,226			
	3c	2,21	2,67	5,526	2x	0,181	0,181	0,452	0,226		0,452	0,566
6862	2a	1,87	2,98	5,482	2x	0,182		0,456	0,228			
	2b	1,71	2,75	5,489	2x	0,182		0,455	0,228			
	3c	2,04	2,75	5,455	2x	0,183	0,183	0,458	0,229		0,457	0,622
6045	2b	1,77	2,5	3,499	3x	0,286		0,714	0,238			
	2a	1,95	2,55	3,493	3x	0,286		0,716	0,239			
	2c	2,79	2,96	3,498	3x	0,286	0,286	0,715	0,238	0,002	0,715	0,130
6254	5a	2,11	2,47	3,485	3x	0,287		0,717	0,239			
	5b	2	2,93	3,487	3x	0,287		0,717	0,239			
	5c	2	2,61	3,485	3x	0,287	0,287	0,717	0,239		0,717	0,050
6254	6a	2,57	1,53	3,454	3x	0,290		0,724	0,241			
	6b	2,31	2,33	3,540	3x	0,282		0,706	0,235			
	6c	1,86	2,79	3,528	3x	0,283	0,285	0,709	0,236		0,713	0,339
6254	2a	1,64	2,39	3,527	3x	0,283		0,709	0,236			
	2b	2,47	2,9	3,548	3x	0,282		0,705	0,235			
	2c	1,99	2,41	3,525	3x	0,284	0,283	0,709	0,236		0,707	0,062
6254	9a	2,62	2,84	3,508	3x	0,285		0,713	0,238			
	9b	1,67	2,13	3,513	3x	0,285		0,712	0,237			
	9c	2,36	2,83	3,516	3x	0,284	0,285	0,711	0,237		0,712	-0,082
5644	5a	2,21	2,33	2,438	4x	0,410		1,025	0,256			
	5b	2,2	2,59	2,440	4x	0,410		1,025	0,256			
	5c	2,88	2,86	2,446	4x	0,409	0,410	1,022	0,256	0,006	1,024	0,336
6662	9a	2,36	2,78	2,562	4x	0,390		0,976	0,244			
	9b	1,94	2,18	2,565	4x	0,390		0,975	0,244			
	9c	2,11	2,31	2,566	4x	0,390	0,390	0,974	0,244		0,975	0,029
6760	3a	1,86	1,97	2,578	4x	0,388		0,970	0,242			
	3b	1,64	2,24	2,574	4x	0,389		0,971	0,243			
	3c	2,06	2,65	2,566	4x	0,390	0,389	0,974	0,244		0,972	0,478